Postverlagsort Berlin

PLANTA

ARCHIV FÜR WISSENSCHAFTLICHE BOTANIK

BEGRÜNDET VON **W. RUHLAND** UND **H. WINKLER**

UNTER MITWIRKUNG VON
J. BONNER-PASADENA, **A. ERNST**-ZÜRICH, **H. v. GUTTENBERG**-ROSTOCK,
R. HARDER-GÖTTINGEN, **W. SCHUMACHER**-BONN

HERAUSGEGEBEN VON

L. BRAUNER
MÜNCHEN

E. BÜNNING
TÜBINGEN

56. BAND, 6. (SCHLUSS-)HEFT
MIT 60 TEXTABBILDUNGEN
(ABGESCHLOSSEN AM 15. MAI 1961)

SPRINGER-VERLAG
BERLIN · GÖTTINGEN · HEIDELBERG
1961

Planta (Berl.)

Preis DM 24.80

Planta. Archiv für wissenschaftliche Botanik

Begründet 1925. Band 1—34 (1945) herausgegeben von *W. Ruhland* und *H. Winkler*. (Band 1—21, 1934, als „Zeitschrift für wissenschaftliche Biologie", Abteilung E.) Band 35—47. Herausgegeben von *W. Ruhland* und *O. Renner*. Band 48—51. Herausgegeben von *W. Ruhland*, *L. Brauner* und *E. Bünning*

Die Zeitschrift „Planta", Archiv für wissenschaftliche Botanik, steht in deutscher Sprache oder einer der Kongreßsprachen, sofern sie die Muttersprache des Autors ist, abgefaßten Originalarbeiten aus dem Gesamtgebiet der Botanik, abgesehen von solchen rein systematischen oder floristischen Inhalts, offen.

Die eingereichten Arbeiten sollen 2 Druckbogen (à 16 Druckseiten) in der Regel nicht überschreiten.

Arbeiten, welche einen Vermerk des Verfassers „Kurze Mitteilung" tragen, werden sobald wie möglich außerhalb der Reihenfolge des Eingangs abgedruckt. Ihr Umfang darf 4 Druckseiten nicht überschreiten; die Beigabe von Abbildungen ist nur in Ausnahmefällen angängig.

Die Zeitschrift erscheint zur Ermöglichung rascher Veröffentlichung zwanglos in einzeln berechneten Heften, die zu Bänden vereinigt werden.

Der Autor erhält einen Unkostenersatz von DM 20.— für den 16seitigen Druckbogen, jedoch im Höchstfalle DM 40.— für eine Arbeit. Für „Kurze Mitteilungen" wird ein Unkostenersatz nicht erstattet.

Grundsätzlich dürfen nur Arbeiten eingereicht werden, die vorher weder im Inland noch im Ausland veröffentlicht worden sind. Der Autor verpflichtet sich, sie auch nachträglich nicht an anderer Stelle zu publizieren. Mit der Annahme des Manuskriptes und seiner Veröffentlichung durch den Verlag geht das Verlagsrecht für alle Sprachen und Länder einschließlich des Rechts der fotomechanischen Wiedergabe oder einer sonstigen Vervielfältigung an den Verlag über. Jedoch wird gewerblichen Unternehmen für den innerbetrieblichen Gebrauch nach Maßgabe des zwischen dem Börsenverein des Deutschen Buchhandels e.V. und dem Bundesverband der Deutschen Industrie abgeschlossenen Rahmenabkommens die Anfertigung einer fotomechanischen Vervielfältigung gestattet. Wenn für diese Zeitschrift kein Pauschalabkommen mit dem Verlag vereinbart worden ist, ist eine Wertmarke im Betrage von DM 0.30 pro Seite zu verwenden. *Der Verlag läßt diese Beträge den Autorenverbänden zufließen.*

Die Mitarbeiter erhalten von ihrer Arbeit bis auf weiteres zusammen 75 Sonderdrucke unentgeltlich.

Aufnahmebedingungen siehe 3. Umschlagseite.

Alle Manuskripte und Anfragen sind zu richten an

Professor Dr. Leo Brauner, München 19, Menzingerstr. 67, Botanisches Institut der Universität,

oder an

Professor Dr. Erwin Bünning, Tübingen, Botanisches Institut der Universität, Wilhelmstraße 5.

Springer-Verlag

Berlin-Wilmersdorf, Heidelberger Platz 3, Fernsprecher 83 03 01, Fernschreibnummer 01-83 319
Heidelberg, Neuenheimer Landstr. 28—30, Fernsprecher 2 79 01, Fernschreibnummer 04-61 723

56. Band — **Inhaltsverzeichnis** — 6. (Schluß-)Heft

Seite

Larcher, W., Zur Assimilationsökologie der immergrünen *Olea europaea* und *Quercus ilex* und der sommergrünen *Quercus pubescens* im nördlichen Gardaseegebiet. Mit 1 Textabbildung 607

Klämbt, H.-D., Wachstumsinduktion und Wuchsstoffmetabolismus im Weizenkoleoptilzylinder. II. Mitteilung: Stoffwechselprodukte der Indol-3-Essigsäure und der Benzoesäure. Mit 9 Textabbildungen 618

Nultsch, W., Der Einfluß des Lichtes auf die Bewegung der Cyanophyceen. I. Mitteilung: Phototopotaxis von *Phormidium autumnale*. Mit 4 Textabbildungen 632

Drawert, H., und M. Mix, Licht- und elektronenmikroskopische Untersuchungen an Desmidiaceen. V. Mitteilung: Über die Variabilität der Chloroplastenstruktur bei *Micrasterias rotata*. Mit 24 Textabbildungen 648

Lange, O. L., Die Hitzeresistenz einheimischer immer- und wintergrüner Pflanzen im Jahreslauf. Mit 5 Textabbildungen 666

Purves, W. K., Dark reactions in the flowering of *Lemna perpusilla* 6746. With 5 Figures in the Text 684

Schwarze, P., Untersuchungen über die Ursachen der Peroxydasevermehrung in gestörten *Phaseolus*-Artbastarden 691

Karvé, A., W. Engelmann and G. Schoser, Initiation of rhythmical petal movements in *Kalanchoe blossfeldiana* by transfer from continuous darkness to continuous light or vice versa. With 12 Figures in the Text 700

Autorenverzeichnis 712

Die Wiedergabe von Gebrauchsnamen, Handelsnamen, Warenbezeichnungen usw. in dieser Zeitschrift berechtigt auch ohne besondere Kennzeichnung nicht zu der Annahme, daß solche Namen im Sinne der Warenzeichen- und Markenschutz-Gesetzgebung als frei zu betrachten wären und daher von jedermann benutzt werden dürften.

Planta 56, 607—617 (1961)

Aus dem Botanischen Institut der Universität Innsbruck

ZUR ASSIMILATIONSÖKOLOGIE DER IMMERGRÜNEN *OLEA EUROPAEA* UND *QUERCUS ILEX* UND DER SOMMERGRÜNEN *QUERCUS PUBESCENS* IM NÖRDLICHEN GARDASEEGEBIET

Von

WALTER LARCHER

Mit 1 Textabbildung

(Eingegangen am 16. Februar 1961)

Gemessen an der gründlichen floristischen und vegetationskundlichen Bearbeitung des mediterranen Florengebietes ist dort experimentell-ökologisch noch verhältnismäßig wenig unternommen worden. Das ist sehr erstaunlich, wenn man bedenkt, daß sich in diesem Gebiet gleich drei grundsätzlich wichtige Fragestellungen aufdrängen: erstens die Frage, inwieweit der relativ milde und kurze — im Süden frostfreie — Winter von den Immergrünen zur Stoffproduktion ausgenützt werden kann; sodann, wie sehr die für das typische Mediterranklima charakteristische Sommerdürre die Vegetation beeinträchtigt, und endlich, wie sich die Kombination des milden Winters mit heißem und trockenem Sommer auf den Wettbewerb zwischen immergrüner Hartlaubmacchie und sommergrünem Laubwald auswirken mag.

Begreiflicherweise wandte sich die Aufmerksamkeit der meisten Ökologen der Sommerdürre zu (vgl. die eingehende Literaturbearbeitung bei PISEK 1960). Beobachtungen ganzer Jahresgänge, die wenigstens indirekt auch über die Produktionsmöglichkeit im Winter Aufschluß geben, sind spärlicher: GOLA (Norditalien; 1923: Stärkeauf- und -abbau), BRUNO (Palermo; 1926: Stärkespeicherung; 1935: Transpiration; 1936: Assimilation), MONTEMARTINI (Palermo; 1928: Trockensubstanzzuwachs mit Hilfe der Blatthälftenmethode, Wassergehalte), KILLIAN (Algier; 1932: Transpiration, Wasserhaushalt; 1933: Assimilation).

Unter den Ergebnissen aller bisherigen Arbeiten dürfen wir, trotz mancher Widersprüche, wohl folgendes als gesichert betrachten:

1. Die *Sommerdürre* gefährdet die Wasserbilanz verschiedener Arten auf demselben Standort ungleich stark; doch sind *alle* Pflanzen je nach Wasserspeicherungsvermögen des Bodens und Dauer der Trockenheit früher oder später gezwungen, immer zeitiger am Tag ihre Spalten zu schließen. Infolge der Schließbewegung wächst der stomatäre Diffusionswiderstand. Vollständiger Spaltenschluß unterbindet den CO_2-Einstrom ins Blatt gänzlich, so daß die Photosynthese darauf beschränkt bleibt,

die Atmungskohlensäure zu reassimilieren (STÅLFELT 1935, PISEK und WINKLER 1956). Bevor es soweit kommt, mag sich zunehmender Diffusionswiderstand im Mesophyll geltend machen (GAASTRA 1959) und Plasmaentquellung die Photosynthese vorübergehend oder sogar anhaltend beeinträchtigen (WALTER 1931, ROMOSE 1940, MONTFORT und HAHN 1950, STOCKER 1954 und 1956).

2. Während der *Wintermonate* sind die Immergrünen gut mit Wasser versorgt. Die Tagesgänge der Transpiration sind eingipfelige, symmetrische Kurven, die Tagesgänge der Netto-Assimilation Klammerkurven (*Pistacia lentiscus*, KILLIAN 1933). Die Assimilation erreicht nach KILLIAN (1933) und BRUNO (1936) im Winter bei den meisten Arten nicht so hohe Intensität wie vor Beginn der Sommerdürre. Vollständig zum Erliegen, wie wir es von den immergrünen Holzpflanzen der kaltgemäßigten Zone kennen (vgl. PISEK 1960, dort auch einschlägige Literatur angegeben), kommt die Assimilation bei den mediterranen Immergrünen jedoch offenbar nicht.

Über das Grundsätzliche hinaus ist wenig bekannt und es bleibt besonders über Stoffgewinn und Stoffhaushalt der Hartlaubvegetation noch viel zu tun. Vor allem wäre es notwendig, für einige charakteristische mediterrane, immergrüne und — zum Vergleich — sommergrüne Holzpflanzen die Jahresbilanz des Kohlenstoffhaushaltes zu erstellen. Die Unterlagen für eine solche Berechnung müßten am Standort an zahlreichen Versuchstagen während des ganzen Jahres durch gleichzeitige Messung des CO_2-Gaswechsels, der Transpiration und der wichtigsten meteorologischen Größen gewonnen werden, im Idealfall durch dauernde Registrierung von CO_2-Gaswechsel und standorts-klimatischen Größen, ein Verfahren, das bisher einzig TRANQUILLINI (1959) auszuüben imstande war. Bei Holzpflanzensämlingen oder Kräutern mag es u. U. (z. B., wenn die Wasserbilanz während der ganzen Vegetationsdauer ständig ausgeglichen bleibt!) möglich sein, die Bilanz sogar mit Hilfe von Laboratoriumsanalysen der Licht- und Temperaturabhängigkeit des CO_2-Gaswechsels zu berechnen, wenn geeignete Klimadaten zur Verfügung stehen (BOYSEN-JENSEN 1932, 1949a, ROMOSE 1940, LARSEN 1941, WINKLER 1960). An größeren Bäumen und Sträuchern aber bleibt, abgesehen von obiger Einschränkung, eine Extrapolation von Meßergebnissen an einzelnen Zweigen auf den ganzen Baum, der ja ein Gefüge mannigfach abgewandelter morphologischer, physiologischer und vor allem mikroklimatischer Faktoren ist, immer nur eine ungefähre Abschätzung, nicht zuletzt deshalb, weil man in eine solche Berechnung die am Stoffhaushalt entscheidend beteiligten Faktoren *Assimilatverwertung und -verteilung nicht einbeziehen kann* (BOYSEN-JENSEN 1932, 1949a, WALTER 1956).

Regelmäßige Konstitutionsanalysen am Standort und schon gar Dauerregistrierung waren mir nicht möglich. So suchte ich vorerst auf Grund von Laboratoriumsexperimenten unter standardisierten Bedingungen (Näheres s. LARCHER 1961, S. 578ff.) möglichst gesichertes Zahlenmaterial zu gewinnen. Wenn auch daraus keine Bilanz errechnet werden kann, so liefern derartige Messungen doch die Unterlagen für eine grobe Abschätzung der Produktions*möglichkeiten* der betreffenden Arten zu den verschiedenen Jahreszeiten. Im übrigen gelten alle nachfolgenden Überlegungen streng genommen nur für ein- bis zweijährige belaubte Zweige, keineswegs für den ganzen Baum. Bei den CO_2-Gaswechselbestimmungen im Laboratorium werden Beleuchtung und Temperatur variiert, der Wasserzustand der Proben wird optimal gehalten. Man mißt also das *Assimilationsvermögen*, d.h. jene Assimilationsintensität, die eine gegebene Probe in ihrem momentanen Entwicklungs-, Aktivitäts- und Anpassungszustand bei *optimaler* Wasserversorgung in den einzelnen Temperatur- und Lichtstufen einhält. Der Einfluß der Sommerdürre auf die Photosynthese ist nach diesem Verfahren nicht erfaßbar. Zwar könnten Versuche mit langsam austrocknenden abgeschnittenen Zweigen einen gewissen Einblick in die spezifische Abhängigkeit des CO_2-Gaswechsels vom Wassersättigungsdefizit vermitteln (PISEK und WINKLER 1956, LARCHER 1960), doch wären Rückschlüsse von den Ergebnissen solcher Versuche auf das Verhalten der Pflanzen in der natürlichen Umwelt viel zu unsicher. Sehr wohl aber eignen sich Bestimmungen des Assimilations- und Respirationsvermögens, um den Einfluß des Licht- und Temperaturklimas auf den Kohlenstofferwerb zu erfassen.

Über die Ergebnisse dreijähriger Untersuchung des Assimilations- und Respirationsvermögens der mediterranen Immergrünen *Olea europaea* L. ssp. *sativa* HOFF. et LINK. und *Quercus ilex* L. und der submediterranen laubabwerfenden *Quercus pubescens* WILLD. von der Nordgrenze der Ölbaumkultur habe ich in einer vorausgegangenen Arbeit (1961) ausführlich berichtet.

Im wesentlichen zeigte sich, daß der reife Neuzuwachs im Sommer und Herbst am meisten zu assimilieren vermag. Erste vereinzelte Nachtfröste, die an der Nordgrenze der Verbreitung der beiden mediterranen Arten ab Anfang Dezember zu erwarten sind, setzen das Netto-Assimilationsvermögen der Steineiche auf $^4/_5$, das des Ölbaums sogar auf $^2/_3$ des sommerlichen Wertes herab. Gleichzeitig steigt das Respirationsvermögen im geprüften Temperaturbereich auf das 1,3- bis 1,5fache der Sommeratmung. Der Januar bringt dem nördlichen Gardaseegebiet in der Regel eine ein- bis zweiwöchige Nachtfrostperiode, die das Assimilationsvermögen beider Arten, besonders aber das des Ölbaums, noch stärker beeinträchtigt. Die letzten vereinzelten Nachtfröste fallen in den Februar. Vom März bis zum Neuaustrieb im April vermögen die nun zu „vorjährigen" gealterten Zweige wieder ergiebiger zu assimilieren als im Winter, jedoch nicht mehr so kräftig wie im Sommer und Herbst ihres ersten Lebensjahres. Jetzt atmen sie auch erheblich träger als vor ihrer Überwinterung. Das Assimilationsvermögen der voll entwickelten Flaumeichenzweige bleibt bis in den Herbst ziemlich konstant. Erst Ende Oktober beginnen die Blätter zu vergilben.

Hier soll nun versucht werden, auf Grund der Ergebnisse dieser Arbeit auszusagen, 1. wie weit mediterrane Immergrüne den für sie eher rauhen Winter an der Nordgrenze ihres Vorkommens zur Stofferzeugung ausnützen können und 2. unter welchen klimatischen Voraussetzungen die beiden immergrünen Hartlaubhölzer im Gardaseegebiet der sommergrünen Flaumeiche hinsichtlich Produktionsmöglichkeit überlegen sein könnten.

Berechnung

Die Grundlage für die folgende Überschlagsrechnung bilden die in der vorausgegangenen Arbeit veröffentlichten Werte des Assimilationsvermögens bei 10000 Lux.

Tabelle 1. *Langjährige Mittel der Lufttemperatur (2 m Wetterhütte) für Riva (70 m ü.d.M., 45° 53' Nord, 10° 50' Ost) nach* FICKER *(1909) und astronomisch mögliche tägliche Sonnenscheindauer für 45° nördl. Breite*

	Januar	Februar	März	April	Mai	Juni	Juli	August	September	Oktober	November	Dezember
a) Monatsmitteltemperatur (°C)	2,8	4,7	7,9	12,4	16,4	20,5	23,5	22,3	18,7	13,7	7,8	4,0
b) Mittleres Temperaturmaximum (°C) . . .	10,6	12,6	16,7	19,8	24,6	27,7	30,1	29,0	26,3	21,3	15,0	10,8
c) Mittleres Temperaturminimum (°C) . . .	−2,5	−1,2	1,1	6,3	9,8	14,2	16,6	15,9	12,3	6,4	1,8	−1,8
$\frac{a+b}{2}$ = „mittlere Temperatur der hellen Tagesstunden" (°C)	*6,7*	*8,6*	*12,3*	*16,1*	*20,5*	*24,1*	*26,8*	*25,6*	*22,5*	*17,5*	*11,4*	*7,4*
$\frac{a+c}{2}$ = „mittlere Temperatur der Nachtstunden" (°C)	*0,1*	*1,7*	*4,5*	*9,3*	*13,1*	*17,3*	*20,0*	*19,1*	*15,5*	*10,0*	*4,8*	*1,1*
Astronomisch mögliche Sonnenscheindauer für 45° nördliche Breite (Std)	9,1	10,5	12,0	13,5	14,9	15,6	14,9	13.5	12,0	10,5	9,1	8,5

Bei 10000 Lux *Beleuchtung* assimilieren alle 3 Arten ungefähr $^3/_5$ soviel wie bei Lichtsättigung (um und knapp über 50000 Lux). Mehr als 10000—20000 Lux stehen den Pflanzen an trüben Tagen nicht zur Verfügung und selbst an sonnigen Tagen empfängt nur ein kleiner Teil der Krone 30000—50000 Lux oder mehr. Photosyntheseraten bei 30000 bis 50000 Lux Beleuchtung sind daher als Grundlage für die Berechnung von Durchschnittswerten schlecht geeignet, weil sie zu hohe Ausbeuten ergeben würden. Die möglichen monatlichen Assimilationsleistungen, die auf Grund des Assimilationsvermögens bei 10000 Lux berechnet wurden, stimmen größenordnungsmäßig recht gut mit Angaben über die „Produktionsleistung" ([EGLE 1960], synonym mit „Net Assimilation Rate" [GREGORY 1917]) überein, die MONSELISE (1951) durch Zuwachsmessungen an beregneten *Citrus*-Sämlingen in Palästina direkt bestimmt hat: *Citrus limetta* var. *dulcis* 1,3—1,7 g/g Trockengewicht × 30 d im Mittel während der Sommermonate. Vgl. dazu diese Arbeit, Tabelle 2, Spalte 5: im Sommer bei *Olea europaea* etwa 1,9—2 g/g Trockengewicht × 30 d, bei *Quercus ilex* etwa 1,4—1,5 g/g Trockengewicht × 30 d kalkuliert.

Als charakteristische durchschnittliche *Temperatur* der hellen Tagesstunden eines Monats verwende ich wie KUSUMOTO (1957) das arithmetische Mittel aus dem mittleren Temperaturmaximum und der Mitteltemperatur jedes einzelnen Monats, als durchschnittliche Nachttemperatur das Mittel aus dem mittleren Temperaturminimum und der Monatsmitteltemperatur. Ich glaube für meine grobe Orientierung die 2 m-Hüttentemperaturen heranziehen zu dürfen, weil der am Nordufer des Gardasees fast ständig herrschende Wind länger dauernde Überhitzung der Blätter ausschließt. In den kurzen Pausen zwischen den

Windstößen habe ich an klaren Tagen mittags auf der Oberseite von senkrecht zum Strahleneinfall orientierten Blättern höchstens 4—5° C Übertemperatur, an anders gestellten Blättern im allgemeinen 1—2° C Übertemperatur thermoelektrisch gemessen. Einige Minuten später glich der nächste Windstoß die Blattemperatur der Lufttemperatur an.

Die Klimadaten für Riva sind in der Tabelle 1 zusammengestellt.

Für jede „mittlere Temperatur der hellen Tagesstunden" kann nun aus Temperaturabhängigkeitskurven (Abb. 2a, b und 4a, b der oben genannten Arbeit) das entsprechende Netto-Assimilationsvermögen abgelesen werden, für jede „mittlere Nachttemperatur" das entsprechende Respirationsvermögen (l. c., Abb. 8). Von Juni bis einschließlich Februar wurde die Kurve für diesjährige Zweige, im folgenden Frühjahr bis einschließlich Mai[1] jene für vorjährige Zweige benützt. Die Dezember- und Februarwerte wurden von der normalen Winterkurve, die Januarwerte von der für die Nachtfrostperiode gültigen Kurve abgelesen. Die Ergebnisse sind in Tabelle 2, Spalte 1 und 2 eingetragen.

Um den *möglichen monatlichen Kohlenstofferwerb* der Zweige (bei optimaler Wasserversorgung) während der hellen Tagesstunden wenigstens beiläufig zu erfahren, muß der Jahresgang der *Sonnenscheindauer* berücksichtigt werden. Dieser ist — abgesehen vom Witterungscharakter und von lokalen Gegebenheiten wie z. B. Horizontabschirmung — durch den astronomisch festgelegten Jahresgang des Tag- und Nachtlängenverhältnisses begrenzt. Zur Berechnung des möglichen monatlichen Assimilationsertrages während der hellen Tagesstunden (s. Tabelle 2, Spalte 3) wurde der auf ökologisch sinnvolle Temperaturen bezogene Betrag des Netto-Assimilationsvermögens (in mg CO_2/g Zweigtrockengewicht und Stunde) mit dem Monatsmittel der astronomisch möglichen täglichen Sonnenscheindauer für 45° nördliche Breite und mit 30 (Zahl der Tage) multipliziert. Als Maßstab für die Tageslänge habe ich diese Größe benützt, weil sie von lokalen Einschränkungen unabhängig ist und weil sie außerdem auch jene Stunden erfaßt, an denen weniger als 10000 Lux Beleuchtung herrscht. Vom möglichen Assimilationsertrag während der hellen Tagesstunden des Monats wurde dann noch der Stoffverlust durch die Atmung während der Nacht[2] abgezogen. Die Differenz ist der monatliche Assimilationsreingewinn der Zweige, das „Monatsnetto der Assimilationskapazität" (s. Tabelle 2, Spalte 5).

Ergebnisse

Beachtet man zunächst ausschließlich den *Temperatureinfluß* auf die Produktionsmöglichkeit in den verschiedenen Monaten, so stellt sich heraus, daß das Netto-Assimilationsvermögen (Tabelle 2, Spalte 1) der beiden *Immergrünen* im Juni und dann wieder im Herbst besonders hoch ist; im Frühjahr, von März bis Mai fehlt noch das leistungsfähige junge Laub, im Hochsommer wieder sind bei 10000 Lux Beleuchtung sogar die Monatsmitteltemperaturen schon supraoptimal. Wäre der Berechnung das Assimilationsvermögen bei 30000 Lux zugrunde gelegt, so würde die „Hochsommerdepression" verschwinden, die temperatur-

[1] Im Mai ist der Neutrieb zwar schon vorhanden, aber noch nicht ausgereift, so daß ein großer Teil der Tagesausbeute an Assimilat nachts durch die überaus rege Atmung der jungen Sprosse wieder verbraucht werden dürfte; vgl. Pisek und Winkler (1958); über Atmung unreifer Sprosse s. Larcher (1961), S. 591.

[2] Respirationsvermögen in mg/g × Std bei jeweils gültigem Monatsmittel der Nachttemperatur × Zahl der Nachtstunden × 30 Tage (Tabelle 2, Spalte 4).

Tabelle 2. *Netto-Assimilationsvermögen (gültig für optimalen Wasserzustand, 10000 Lux Beleuchtungstärke und etwa 0,034 Vol.-% CO_2) von Olea europaea, Quercus ilex und Quercus pubescens in den einzelnen Monaten des Jahres, berechnet für die Temperaturverhältnisse von Riva und die astronomisch mögliche Sonnenscheindauer eines Ortes auf 45° nördl. Breite*

	Januar	Februar	März	April	Mai	Juni	Juli	August	September	Oktober	November	Dezember	
1. *Nettoassimilationsvermögen* bei der mittleren Temperatur der hellen Tagesstunden (mg CO_2/g Zweigtrockengewicht × Std)	**1,7** 2,3	**2,6** 2,8	**4,1** 3,0	**4,4** 3,0	**4,4** 3,0 *10,1*	**5,0** 3,7 *10,1*	**4,6** 3,4 *9,5*	**4,8** 3,7 *9,8*	**5,3** 4,1 *10,2*	**5,6** 4,6 *9,5*	**5,1** 4,4	**2,5** 2,7	***Olea*** *Quercus ilex* *Quercus pubescens*
2. *Respirationsvermögen* bei der mittleren Nachttemperatur jedes einzelnen Monats (mg CO_2/g × Std)	**0,05** 0,07	**0,06** 0,08	**0,06** 0,10	**0,09** 0,12	**0,12** 0,14 *0,60*	**0,33** 0,24 *0,78*	**0,42** 0,30 *0,93*	**0,40** 0,27 *0,76*	**0,26** 0,22 *0,70*	**0,15** 0,14 *0,45*	**0,08** 0,10	**0,06** 0,08	***Olea*** *Quercus ilex* *Quercus pubescens*
3. Möglicher *monatlicher Assimilationsertrag* während der hellen Tagesstunden des Monats (g CO_2/g Zweigtrockengewicht × 30 Tage)	**0,46** 0,63	**0,82** 0,88	**1,47** 1,08	**1,78** 1,21	**1,97** 1,34 *4,51*	**2,34** 1,73 *4,73*	**2,06** 1,52 *4,25*	**1,95** 1,50 *3,97*	**1,91** 1,47 *3,67*	**1,77** 1,45 *3,00*	**1,39** 1,20	**0,64** 0,69	***Olea*** *Quercus ilex* *Quercus pubescens*
4. Möglicher *monatlicher Stoffverlust durch Atmung* während der Nachtstunden (g CO_2/g × 30 Tage)	**0,02** 0,03	**0,02** 0,03	**0,02** 0,04	**0,03** 0,04	**0,03** 0,04 *0,16*	**0,08** 0,06 *0,20*	**0,12** 0,08 *0,25*	**0,13** 0,09 *0,24*	**0,06** 0,08 *0,25*	**0,06** 0,06 *0,18*	**0,04** 0,05	**0,03** 0,04	***Olea*** *Quercus ilex* *Quercus pubescens*
5. „*Monatsnetto der Assimilationskapazität*" (= mögliche monatliche Netto-Assimilation bei Tag abzüglich möglicher monatlicher Nachtatmung) (g CO_2/g × 30 Tage)	**0,44** 0,60	**0,80** 0,85	**1,45** 1,04	**1,75** 1,17	**1,94** 1,30 *4,35*	**2,26** 1,67 *4,53*	**1,94** 1,44 *4,00*	**1,82** 1,41 *3,73*	**1,82** 1,39 *3,42*	**1,71** 1,39 *2,82*	**1,35** 1,15	**0,61** 0,65	***Olea*** *Quercus ilex* *Quercus pubescens*

günstigste Zeit für die Assimilation würde dann von Mai bis Oktober reichen. Das Winterminimum des Assimilationsvermögens ist vor allem deshalb stark ausgeprägt, weil zur Herabsetzung der photosynthetischen Leistungsfähigkeit noch kommt, daß von Dezember bis Mitte Februar die Tagestemperaturen meist unter dem Optimum bleiben.

Quercus pubescens bewahrt von Juli bis September ein nahezu konstantes Assimilationsvermögen.

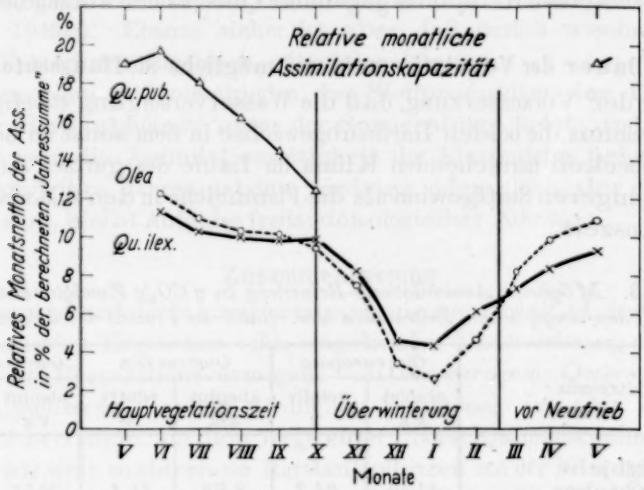


Abb. 1. Jahresverlauf des „Monatsnetto der Assimilationskapazität" des Neutriebes von *Olea europaea*, *Quercus ilex* und *Quercus pubescens* im Zuge der Reifung und Alterung, relativ in Prozenten der Jahressumme aller Monatswerte ausgedrückt. Der Berechnung liegen Messungen des Assimilationsvermögens bei 10000 Lux Beleuchtung (Xenon-Hochdrucklampe) und einem CO_2-Angebot von etwa 0,034 Vol.-% zugrunde. Die Abbildung soll *nicht* die Assimilationsleistung am Standort wiedergeben, sondern nur veranschaulichen, wieviel jede der Arten bestenfalls in jedem einzelnen Monat ihrer Vegetationszeit zur Stoffausbeute des gesamten Jahres beitrüge, *wenn sie stets optimal mit Wasser versorgt wäre*

Die Atmung — als Negativposten in der Stoffbilanz von Bedeutung — ist in den Wintermonaten wegen der tiefen Temperaturen sehr viel niedriger als im Frühjahr, Sommer und Herbst, obwohl das Respirationsvermögen an sich in der kalten Jahreszeit größer wäre.

Mit dem Jahresgang der Temperatur interferiert jener der Sonnenscheindauer. Den kombinierten Einfluß von Temperatur und *Tageslänge* auf die Möglichkeit des Stofferwerbs bei optimaler Wasserversorgung soll die Abb. 1 andeuten. Der Reingewinn in jedem einzelnen Monat ist dort in Prozenten der maximal möglichen Jahressumme (s. Tabelle 3) ausgedrückt. Die so gewonnene Jahreskurve der relativen monatlichen Netto-Assimilationskapazität schwingt mit 20—30% weiterem Ausschlag, als wenn der Einfluß der Temperatur allein berücksichtigt worden wäre. Besonders im November — bei der lebhafter atmenden *Quercus pubescens* schon ab August — begrenzt die Kürze der hellen

Tageszeit den Stoffgewinn der um diese Zeit noch sommerlich aktiven Immergrünen mehr als die sinkende Temperatur. Im Winter gesellt sich zur verminderten photosynthetischen Aktivität der Blätter und den unteroptimalen Temperaturen noch der Lichtmangel (Kürze der Tage). *Quercus ilex* vermag die kalte Jahreszeit besser auszunützen als *Olea*. Der Ölbaum ist aber — stets reichliche Wasserzufuhr vorausgesetzt — dank seiner spezifischen Assimilationstüchtigkeit leicht imstande, im Laufe des warmen Halbjahres gegenüber *Quercus ilex* aufzuholen.

Dauer der Vegetationszeit und mögliche Stoffausbeute

Unter der Voraussetzung, daß die Wasserversorgung *ständig optimal* bliebe, erzielen die beiden Hartlaubgewächse in dem sonst im nördlichen Gardaseebecken herrschenden Klima im Laufe des ganzen Jahres eindeutig geringeren Stoffgewinn als die Flaumeiche in den 6 Monaten ihrer Vegetationszeit.

Tabelle 3. *Möglicher Assimilations-Reinertrag in g CO_2/g Zweigtrockengewicht während des angegebenen Zeitraumes bzw. relativ in Prozent der Jahressumme*

Zeitraum	*Olea europaea*		*Quercus ilex*		*Quercus pubescens*	
	absolut g/g	relativ %	absolut g/g	relativ %	absolut g/g	relativ %
Warmes Halbjahr Mai bis Oktober	11,49	64,3	8,65	61,1	22,85	100
Kühles Halbjahr November bis April . .	6,40	35,7	5,46	38,9	0	0
Ganzes Jahr	17,89	100	14,06	100	22,85	100

Derartiges hatte schon SCHIMPER (1898) vermutet. Diese Überlegenheit der Flaumeiche bleibt auch noch bestehen, wenn angenommen wird, die Mitteltemperaturen des kältesten Monats würden (wie das im Mediterrangebiet die Regel ist, DE PHILIPPIS 1937, LARCHER 1954), nicht unter $+5^0$ C absinken und die Sommertemperaturen nicht höher steigen als in Riva; dann ist für *Olea* als mögliche Jahresproduktion rund 19,2 g/g, für *Quercus ilex* rund 14,6 g/g einzusetzen. Weiter ergibt sich, daß auch die Immergrünen unter den vorausgesetzten Vegetationsbedingungen — ständig ausgeglichene Wasserbilanz — den größeren Teil ihrer Jahresausbeute im Sommer erarbeiten. In der Zeit vom November bis April, während der die sommergrünen Bäume kahl stehen, kann *Quercus ilex* nur $^2/_5$, *Olea* wenig mehr als $^1/_3$ des maximal möglichen Jahresertrages produzieren. Das bedeutet, daß nur dann die Hartlaubvegetation durch sommergrünen Laubwald nicht übervorteilt wird, wenn Trockenheit, unter der *Quercus pubescens* stärker leidet als die Immergrünen, die *sommerliche* Stoffproduktion stört. Wo Sommertrockenheit fehlt oder nur schwach ausgeprägt ist, verdrängen sommergrüne Wälder die Macchie

im freien Wettbewerb, wie WALTER (1956) am Beispiel Nordspaniens und Nordanatoliens demonstriert. Die Immergrünen ziehen sich dort auf Stellen zurück, auf denen lokalklimatisch, edaphisch oder unter dem Einfluß von Mensch und Vieh den laubabwerfenden Bäumen das Fortkommen erschwert ist.

Ich habe die Wettbewerbsfrage hier vom Gesichtspunkt der Assimilationsökologie allein zu beurteilen versucht. Die Stoffproduktion ist sicher von ganz wesentlicher Bedeutung für den Wettbewerb (BOYSEN-JENSEN 1949b). Ebenso sicher ist aber, daß örtlich wechselnd auch andere Faktoren maßgeblich mitspielen können.

Festzustellen wie verschieden die Stoffproduktion der Flaumeiche und der Hartlaubhölzer[1] unter der Sommerdürre leidet und wie lange und wie sehr die Assimilationstätigkeit der Flaumeiche behindert sein muß, damit ihre Jahresausbeute niedriger oder gleich der der Sklerophyllen wird, bleibt Aufgabe freilandökologischer Arbeit.

Zusammenfassung

Aufbauend auf die in einer vorausgegangenen Arbeit (LARCHER 1961) veröffentlichten Ergebnisse einer eingehenden Untersuchung des Assimilations- und Respirationsvermögens von *Olea europaea*, *Quercus ilex* und *Quercus pubescens* aus dem nördlichen Gardaseegebiet (Mt. Brione bei Riva) wird versucht, auf dem Wege einer Überschlagungsrechnung zu erfahren, wie weit mediterrane Hartlaubpflanzen an der Nordgrenze ihres Vorkommens den Winter für den Kohlenstofferwerb ausnützen können und unter welchen klimatischen Voraussetzungen dort immergrüne Bäume gegenüber sommergrünen im Vorteil sein mögen.

Der Winter kann von den Immergrünen des Mittelmeergebiets sehr wohl in den durch Lichtangebot und jeweils herrschende Temperatur gesetzten Grenzen für die Stoffproduktion ausgenützt werden, wobei *Quercus ilex* während des ganzen Winters und besonders zur Zeit der größten Kälte im Januar dem Ölbaum deutlich überlegen ist (vgl. Tabelle 2 und die Abbildung).

Bleibt die Wasserversorgung stets optimal, dann vermögen Zweige von *Quercus pubescens* in den 6 Monaten ihrer Vegetationstätigkeit pro Trockengewichtseinheit mehr CO_2 zu binden als Zweige beider Hartlaubhölzer im Laufe des ganzen Jahres (vgl. Tabelle 3); auch diese würden — immer unter Voraussetzung unnatürlich regelmäßiger Wasserversorgung — den größeren Teil (*Olea* etwa 64%, *Quercus* etwa 61%) ihrer Jahresausbeute im warmen Halbjahr Mai bis Oktober erarbeiten. Daraus ergibt sich, daß die immergrünen Bäume die laubabwerfenden im Jahresstoffertrag nur dort übertreffen, wo eine *entsprechend lange und strenge sommerliche Dürrezeit* die Assimilationstätigkeit der Bäume stört.

[1] Mit Ausnahme des Ölbaums, der als Kulturpflanze nicht in den natürlichen Wettbewerb tritt.

Literatur

BOYSEN-JENSEN, P.: Die Stoffproduktion der Pflanzen. Jena: Gustav Fischer (1932).

— The production of matter in agricultural plants and its limitation. Biol. Medd. danske Vidensk. Selsk. **21**, Nr 2, 3—28 (1949a).

— Causal plant geography. Biol. Medd. danske Vidensk. Selsk. **21**, Nr 3, 3—19 (1949b).

BRUNO, F.: L'amido delle foglie delle sempreverdi nel clima mediterraneo nelle quattro stagioni dell'anno. Boll. Studi R. Giard. Colon. Palermo **9**, 3—38 (1926).

— La fluttuazione diurna della traspirazione nel corso delle stagioni nel clima del mediterraneo. Lav. R. Ist. Bot. Palermo **6**, 1—92 (1935).

— Studio sulla fotosintesi clorofilliana delle piante sempreverdi nel clima del mediterraneo. Lav. R. Ist. Pot. Palermo **7**, 1—154 (1936).

EGLE, K.: Methoden der Photosynthesemessung. Landpflanzen. In W. RUHLAND, Handbuch der Pflanzenphysiologie, Bd. V/1, S. 115—163. Berlin-Göttingen-Heidelberg: Springer 1960.

FICKER, H. v.: Klimatographie von Tirol und Vorarlberg. Wien: Gerold & Co. 1909.

GAASTRA, P.: Photosynthesis of crop plants as influenced by light, carbon dioxyd, temperature, and stomal diffusion resistance. Medd. Landbouwhogesch. Wageningen **59** (**13**), 1—68 (1959).

GOLA, G.: L'amido delle foglie durante l'estivazione. Lav. Ist. Bot. Padova 1923.

GREGORY, F. G.: Physiological conditions in cucumber houses. Exp. Res. Sta. Cheshunt **3**, 19—28 (1917). Zit. bei EGLE 1960.

KILLIAN, CH.: Recherches écologiques sur les fluctuations saisonnières de la transpiration chez les végétaux du climat méditerranéen. Bull. Soc. bot. France **79**, 460—501 (1932).

— Recherches écologiques sur les fluctuations saisonnières de l'assimilation chlorophyllienne chez les plantes du maquis algérien. C. R. Acad. Sci. (Paris) **196**, 408—411 (1933).

KUSUMOTO, T.: Physiological and ecological studies on plant production in plant communities. III. Ecological consideration of the temperature-photosynthesis curves of evergreen broad-leaved trees. Jap. J. Ecol. **7**, 126—130 (1957).

LARCHER, W.: Die Kälteresistenz mediterraner Immergrüner und ihre Beeinflußbarkeit. Planta (Berlin) **44**, 607—635 (1954).

— Transpiration and photosynthesis of detached leaves and shoots of *Quercus pubescens* and *Quercus ilex* during desiccation under standard conditions. Bull. Res. Counc. Isr. 8D, 213—224 (1960).

— Jahresgang des Assimilations- und Respirationsvermögens von *Olea europaea* L. ssp. *sativa* Hoff. et Link., *Quercus ilex* L. und *Quercus pubescens* Willd. aus dem nördlichen Gardaseegebiet. Planta (Berl.) **56**, 575—606 (1961).

LARSEN, P.: Vergleich der direkt bestimmten und der aus Messungen der Assimilation und Atmung errechneten Stoffproduktion einjähriger Pflanzenbestände. Planta (Berl.) **32**, 343—363 (1941/42).

MONSELISE, S. P.: Growth analysis of citrus seedlings. I. Growth of sweet lime seedlings in dependence upon illumination. Palestine J. Bot., Rehovot Ser. 8, 54—75 (1951).

MONTEMARTINI, L.: Materiali per lo studio del sistema assimilatore delle piante. Ann. di Bot. **18**, 1—53 (1928).

MONTFORT, C., u. H. HAHN: Atmung und Assimilation als dynamisches Kennzeichen abgestufter Trockenresistenz bei Farnen und höheren Pflanzen. Planta (Berl.) **38**, 505—515 (1950).

Philippis, A. de: Classificazioni ed indici del clima, in rapporto alla vegetazione forestale italiana. Nuovo Giorn. bot. ital. **44**, 1—169 (1937).

Pisek, A.: Immergrüne Pflanzen. In W. Ruhland, Handbuch der Pflanzenphysiologie Bd. V/2, S. 415—459. Berlin-Göttingen-Heidelberg: Springer 1960.

—, u. E. Winkler: Wassersättigungsdefizit, Spaltenbewegung und Photosynthese. Protoplasma **46**, 597—611 (1956).

— — Assimilationsvermögen und Respiration der Fichte (*Picea excelsa* Link.) in verschiedener Höhenlage und der Zirbe (*Pinus cembra* L.) an der alpinen Waldgrenze. Planta (Berl.) **51**, 518—543 (1958).

Romose, V.: Ökologische Untersuchungen über *Homalothecium sericeum*, seine Wachstumsperioden und seine Stoffproduktion. Dansk. bot. Ark. **10**, 1—138 (1940).

Schimper, A. F. W.: Pflanzengeographie auf physiologischer Grundlage. Jena: Gustav Fischer 1898.

Stålfelt, M. G.: Die Spaltöffnungsweite als Assimilationsfaktor. Planta (Berl.) **23**, 715—759 (1935).

Stocker, O.: Der Wasser- und Assimilationshaushalt südalgerischer Wüstenpflanzen. Ber. dtsch. bot. Ges. **67**, 289—299 (1954).

— Wassermangel und Zellaktivität. In W. Ruhland, Handbuch der Pflanzenphysiologie, Bd. II, S. 639—654. Berlin-Göttingen-Heidelberg: Springer 1956.

Tranquillini, W.: Die Stoffproduktion der Zirbe (*Pinus cembra* L.) an der Waldgrenze während eines Jahres. I. Standortsklima und CO_2-Assimilation. Planta (Berl.) **54**, 107—129 (1959).

Walter, H.: Die Hydratur der Pflanze. Jena: Gustav Fischer 1931.

— Die heutige ökologische Problemstellung und der Wettbewerb zwischen der mediterranen Hartlaubvegetation und den sommergrünen Laubwäldern. Ber. dtsch. bot. Ges. **69**, 263—273 (1956).

Winkler, E.: Die Stoffproduktion der Kartoffelpflanzen im Tal (600 m), im Mittelgebirge (900 m) und an der Waldgrenze (1880 m) bei Innsbruck. Veröff. Ferdinandeum Innsbruck **39**, 5—65 (1960).

Dr. W. Larcher,
Botanisches Institut der Universität Innsbruck, Sternwartestraße 15, Österreich

Planta 56, 618—631 (1961)

Aus dem Botanischen Institut der Universität Bonn

WACHSTUMSINDUKTION UND WUCHSSTOFFMETABOLISMUS IM WEIZENKOLEOPTILZYLINDER

II. Mitteilung

STOFFWECHSELPRODUKTE DER INDOL-3-ESSIGSÄURE UND DER BENZOESÄURE

Von

HANS-DIETER KLÄMBT

Mit 9 Textabbildungen

(Eingegangen am 24. Januar 1961)

Um Einblick in das physiologische Geschehen bei der Auslösung der Zellstreckung durch Indol-3-essigsäure (IES) oder durch andere synthetische Streckungswuchsstoffe zu erhalten, muß zunächst untersucht werden, ob und welche Stoffwechselprodukte während der Wachstumsinduktion auftreten. Seit den Arbeiten von ANDREAE und GOOD (1955, 1957) wissen wir, daß Indol-3-acetylasparaginsäure (IAAS) und unter bestimmten Bedingungen wohl auch Indol-3-acetamid (IAAM) als Reaktionsprodukte der IES in der Pflanze gebildet werden. Der Nachweis der IAAS ist in der Folgezeit wiederholt erbracht worden (BENNET-CLARK und WHEELER 1959; KLÄMBT 1960a, b, 1961). Darüber hinaus sind auch für andere synthetische Streckungswuchsstoffe die entsprechenden Asparaginsäurederivate in der Pflanze nachgewiesen worden (ANDREAE und GOOD 1957: 2,4-Dichlorphenoxyacetylasparaginsäure; ZENK 1960: Naphthyl-1-acetylasparaginsäure). Schließlich besitzt das pflanzliche Gewebe die Fähigkeit, auch Benzoesäure mit Asparaginsäure zu konjugieren (ANDREAE und GOOD 1957).

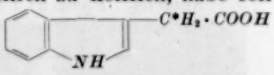
Es kann heute als sehr wahrscheinlich angenommen werden, daß die Bildung dieser Asparaginsäurederivate eine Entgiftungsreaktion darstellt, die zur Wachstumsinduktion keine Beziehung hat.

Wenn wir eine Ionenwirkung der Wuchsstoffe als Wachstums„reiz" ablehnen, dann müssen spezifische Reaktionsprodukte der Streckungswuchsstoffe gebildet werden, die schließlich die gesuchte Beziehung zur Wachstumsinduktion besitzen. In der letzten Arbeit (KLÄMBT 1961) konnte wahrscheinlich gemacht werden, daß in den Weizenkoleoptilzylindern (WKZ) nach IES-Inkubationen zusätzlich estergebundene IES auftritt, die jedoch einer näheren Bestimmung wegen ihrer Unlöslichkeit in Äther mit den dort verwendeten Methoden nicht zugänglich war. Die vorliegende Arbeit bemüht sich um die Aufdeckung aller Stoffwechselprodukte der IES und Benzoesäure (BS), die in den WKZ während der Inkubationen gebildet werden.

Material und Methoden

Die vorliegenden Versuche wurden mit WKZ der Sorte „Carsten VI", Hochzucht, durchgeführt. Die Anzucht erfolgte wie früher schon beschrieben (KLÄMBT 1961). Auf umfangreiches, statistisch auswertbares Material wurde verzichtet, da vorerst nur qualitative und nicht quantitative Untersuchungen erforderlich sind.

Die Materialaufarbeitung wurde wesentlich abgeändert. Es mußte eine Methode gefunden werden, die eine Untersuchung der ganzen WKZ erlaubte. Die Schwierigkeit bestand darin, sowohl für den Nachweis ausreichendes Koleoptilgewebe zu verwenden, als auch durch ein Minimum an Gewebe die papierchromatographische Trennung günstig zu gestalten. Nach eingehenden Untersuchungen entschied ich mich für die Verwendung von je 10 WKZ, die nach 4- bzw. 22stündiger Inkubation nacheinander — jeweils nach Trocknung im kalten Luftstrom — auf einen Startfleck aufgedrückt wurden. Die WKZ-Reste wurden anfänglich entfernt, später jedoch auf dem Startfleck belassen. Anschließend wurde 2-dimensional chromatographiert. In der 1. Dimension verwandte ich für die ersten Untersuchungen Isopropanol:Eisessig:Wasser (80:5:15), später ausschließlich Butanol: Ameisensäure:Wasser (10:1:2). In der 2. Dimension trennte ich mit Isopropanol: NH_3:Wasser (80:15:5).

Die ersten Versuche führte ich mit der freien Indol-3-essigsäure — Merck-Präparat 353 — durch. Bei je 10 WKZ als Ausgangsmaterial war der Nachweis mit EHRLICHS Reagens — p-Dimethylaminobenzaldehyd — verständlicherweise nur sehr schwach. Um einen empfindlicheren Nachweis führen zu können, habe ich zusätzlich methyl-^{14}C-markierte Indol-3-essigsäure 

(CFA 202, Radiochemical Centre, Amersham, England; spezifische Aktivität 3,82 mC/mM) verwendet. Außerdem wurde carboxyl-^{14}C-markierte Benzoesäure —C*OOH (CFA 26, Radiochemical Centre, Amersham, England; spezifische Aktivität 2,62 mC/mM) in die Versuche einbezogen, um die Stoffwechselprodukte einer aromatischen Säure ohne Streckungswuchsstoff-Eigenschaften mit jenen der IES vergleichen zu können.

Ergebnisse

IES-Inkubationsversuche. In der vorangegangenen Arbeit (KLÄMBT 1961) konnte ich die Existenz von einem oder mehrerer ätherunlöslicher IES-Ester wahrscheinlich machen. Die vorliegenden Untersuchungen galten der näheren Identifizierung dieser und eventuell anderer ätherunlöslicher IES-Reaktionsprodukte. Um das ganze Pflanzenmaterial in die Untersuchungen einzubeziehen, entschloß ich mich zu der oben ausgeführten einfachsten Methode. Die mögliche fermentative Umsetzung während der Auftragung und Trocknung im kalten Luftstrom ist angesichts der zu beschreibenden Ergebnisse sicher sehr gering. Die Zahl und Konzentration der auftretenden Reaktionsprodukte spricht gegen einen bedeutenden Einfluß einer Fermentwirkung, da aus energetischen Erwägungen heraus eher eine Spaltung als Synthesen auftreten dürften. Die 2-dimensionale Chromatographie, die ausschließlich angewendet wurde, gestattet eine optimale Trennung auf kleinem Raum (Abb. 1).

Neben IES und IAAS ist deutlich ein dritter Ehrlich-positiver Fleck zu erkennen, der sowohl in Isopropanol:Eisessig:Wasser als auch in

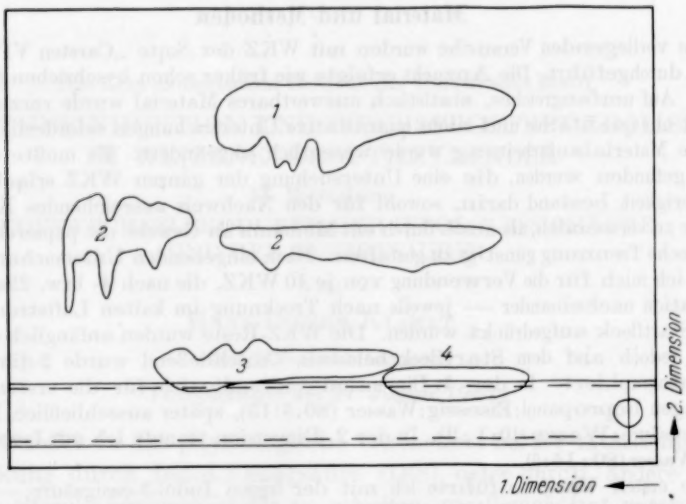


Abb. 1. 2-dimensionales Chromatogramm von 10 WKZ, die nach 22stündiger Inkubation in $3 \cdot 10^{-3}$ m IES-Lösung am Startfleck aufgedrückt wurden. 1. Dimension: Isopropanol: Eisessig: Wasser, 2. Dimension: Isopropanol: NH_3: Wasser. Farbentwicklung mit EHRLICHS Reagens. Flecken: *1* zunächst unbekanntes IES-Ester; *2* Indol-3-essigsäure; *3* Indol-3-acetylasparaginsäure; *4* unbekannte Ehrlich-blaugrüne Substanz

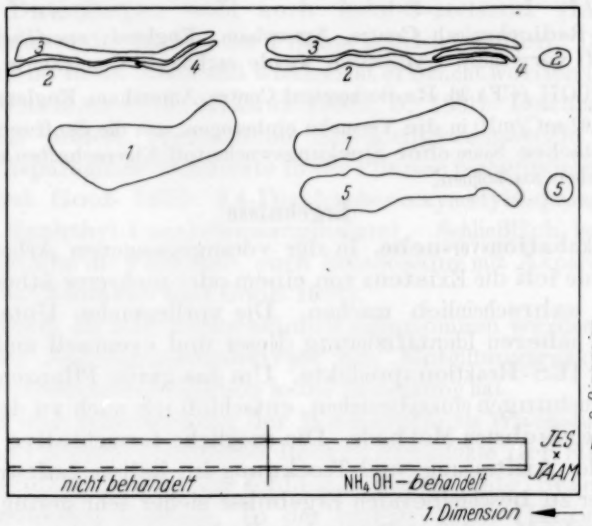


Abb. 2. Parallelchromatogrammstreifen der 1. Dimension des Chromatogramms der Abb. 1 in der Höhe des zunächst unbekannten IES-Ester ausgeschnitten, mit und ohne NH_4OH-Hydrolyse aufgenäht und in der 2. Dimension in Wasser chromatographiert. Farbflecke wie in Abb. 1, zusätzlich *5* Indol-3-acetamid

Isopropanol: NH_3: Wasser einen geringfügig niedrigeren R_f-Wert als IAAM besitzt. Wurde das letzte Lösungsmittel sofort nach dem Ansatz in der 2. Dimension verwendet, so trat zusätzlich parallel über der eben

beschriebenen Substanz ein Ehrlich-positiver Fleck auf, der als IAAM identifiziert werden konnte (vgl. hierzu Abb. 3, 4 und 5). Es mußte sich folglich bei der unbekannten Substanz um ein Säureanhydrid oder wahrscheinlicher um einen leicht spaltbaren Ester handeln. Die Esterspaltung ließ sich experimentell durch kurzes Einwirken von konzentriertem NH_4OH (25%) bei Zimmertemperatur auf dem Chromatogramm auslösen. Anschließend konnte im Wasserchromatogramm — Abb. 2 —

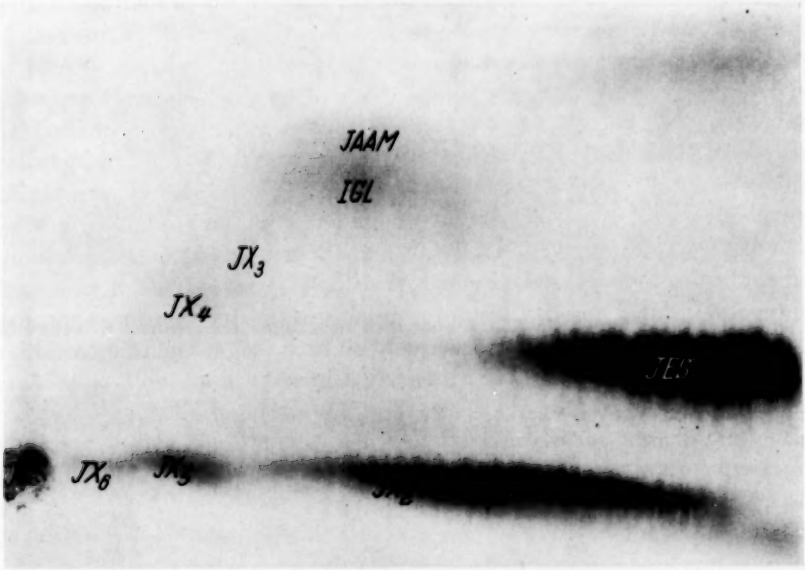


Abb. 3. Autoradiogramm eines 2-dimensionalen Chromatogramms von 10 am Startfleck aufgedrückten WKZ, die 4 Stunden in ^{14}C-markierter IES ($6 \cdot 10^{-4}$ m) inkubiert waren.
1. Dimension (horizontal): Butanol : Ameisensäure : Wasser,
2. Dimension: Isopropanol: NH_3: Wasser. *S* Startfleck

der Erfolg der Spaltung durch das Auftreten von IAAM kontrolliert werden. Die Zugehörigkeit der alkoholischen Komponente des unbekannten Esters zu den Kohlenhydraten war nicht schwer zu entscheiden, da der Ester ätherunlöslich, aber in Äthylacetat löslich ist. Außerdem deutet der relativ niedrige R_f-Wert dieses Esters in Isopropanol: NH_3: Wasser auf eine sehr hydrophile Substanz, wie sie Kohlenhydratester darstellen. Entsprechende Chromatogrammstreifen der Abb. 2 wurden in wassergesättigtem Phenol chromatographiert und auf Zucker mit Anilin-Phthalsäure entwickelt. Hierbei ergab sich für den NH_3-behandelten Chromatogrammstreifen ein eindeutiger Nachweis für Glucose, der beim unbehandelten Chromatogrammstreifen fehlte. Es darf folglich als erwiesen gelten, daß WKZ bei Inkubation in IES-Lösungen einen IES-Glucose-Ester (IGl) bilden. Da ein weitgehend gereinigtes Präparat

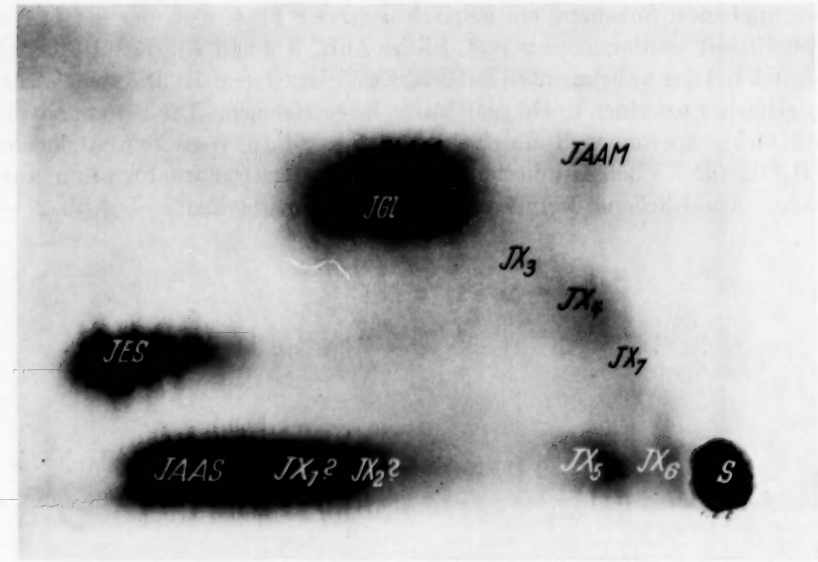


Abb. 4. Autoradiogramm wie Abb. 3, aber nach 22stündiger Inkubation. Erläuterungen wie zu Abb. 3

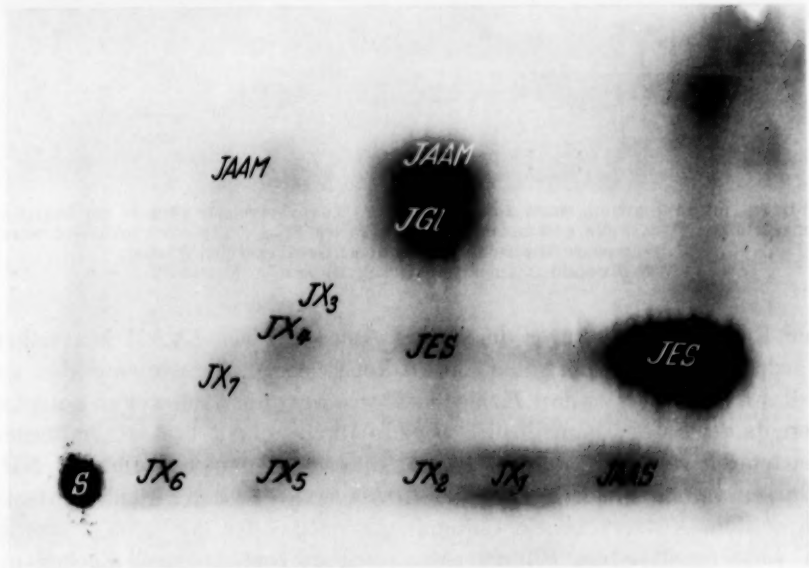


Abb. 5. Autoradiogramm eines 2-dimensionalen Chromatogramms von 10 am Startfleck aufgedrückten WKZ, die 22 Std in ^{14}C-markierter IES ($3 \cdot 10^{-3}$ m) inkubiert waren. Erläuterungen wie zu Abb. 3

dieses Esters durch β-Glucosidase gespalten wird, kann angenommen werden, daß der Ester 1-Indol-3-acetyl-βd-glucose darstellt. Die fermentative Spaltung erfolgte jedoch stets nur mit etwa $^4/_5$ des Substrates, so

daß eventuell ein anderer IES-Glucose-Ester in der Totalfraktion enthalten ist, der noch nicht näher bestimmt werden konnte. Die Empfindlichkeit der Farbentwicklung mit EHRLICHS Reagens gestattet den Nachweis von nur relativ großen Mengen ($> 10^{-8}$ M). Um nun aber die Verhältnisse in den WKZ niedriger Inkubationskonzentrationen ($6 \cdot 10^{-6}$ bis $6 \cdot 10^{-4}$ m) untersuchen zu können, wurde ^{14}C-markierte IES verwendet. Wie die Autoradiogramme — Abb. 3, 4 und 5 — zeigen, findet das Ergebnis der Farbentwicklung seine Bestätigung, und zusätzlich erscheinen noch eine Anzahl radioaktiv markierter Flecken, die sich in den R_f-Werten deutlich von IES unterscheiden. Das Auftreten des IAAM geht auf die hydrolytische Wirkung des ammoniakalischen Lösungsmittels zurück, wie bereits oben ausgeführt wurde. Welche IES-Reaktionsprodukte für die einzelnen Flecken in Frage kommen, ist vorerst nicht zu entscheiden. Die Vielzahl der Reaktionsprodukte der IES ist erstaunlich, und um zunächst nur einen bescheidenen Einblick in die Bindungsnatur dieser Produkte zu erhalten, wurden die korrespondierenden Flecken der Chromatogramme ausgeschnitten und eine Stunde in n NaOH bei 100° C hydrolysiert. Die Hydrolysate wurden nach Ansäuerung mit Äther ausgeschüttelt, dieser nach Einengung fleckförmig aufgetragen und in Isopropanol:NH_3:Wasser chromatographiert. Von den Chromatogrammen wurden erneut Autoradiogramme hergestellt und IES für die Flecken IX_5, IX_6 und den Startfleck erhalten. Für die Flecken IX_3 und IX_4 war das Ergebnis nicht eindeutig. IX_1, IX_2 und IX_7 wurden nicht hydrolysiert. Somit können wir mit großer Wahrscheinlichkeit annehmen, daß die Flecken IX_5, IX_6 IES-Ester darstellen. Der Startfleck könnte neben IES-Ester auch noch amidgebundene IES enthalten, da im Startfleck eine Summe von alkoholunlöslichen Substanzen vereinigt ist.

Benzoesäure-Inkubationsversuche. Wenn wir von der Annahme ausgehen, daß bei der Auslösung des Streckungswachstums durch Wuchsstoffe ganz spezifische Wuchsstoffverbindungen auftreten, die die Auslösung bewirken oder das Wachstum fördern, dann müssen auch Nicht-Wuchsstoffe und ihre spezifischen Reaktionsprodukte interessieren. Auftretende Unterschiede qualitativer und eventuell auch schon quantitativer Art können gegebenenfalls klärend und richtungsweisend zur Lösung unserer Frage sein.

Die Abb. 6 und 7 zeigen Autoradiogramme von je 10 WKZ, die 4 bzw. 22 Std in $6 \cdot 10^{-4}$ m BS (Carboxyl-markiert) inkubiert waren. Diese Konzentration hemmt bereits das Wachstum. Hierbei treten jedoch die Reaktionsprodukte der BS besonders deutlich hervor, weshalb ich zunächst die Darstellung dieser Autoradiogramme wählte.

Aus der Ähnlichkeit des Indol-3-acetyl- und des Benzoyl-Restes konnte von vornherein angenommen werden, daß die Reaktionsprodukte der BS ähnliche R_f-Werte wie jene der IES aufwiesen. Die Autoradio-

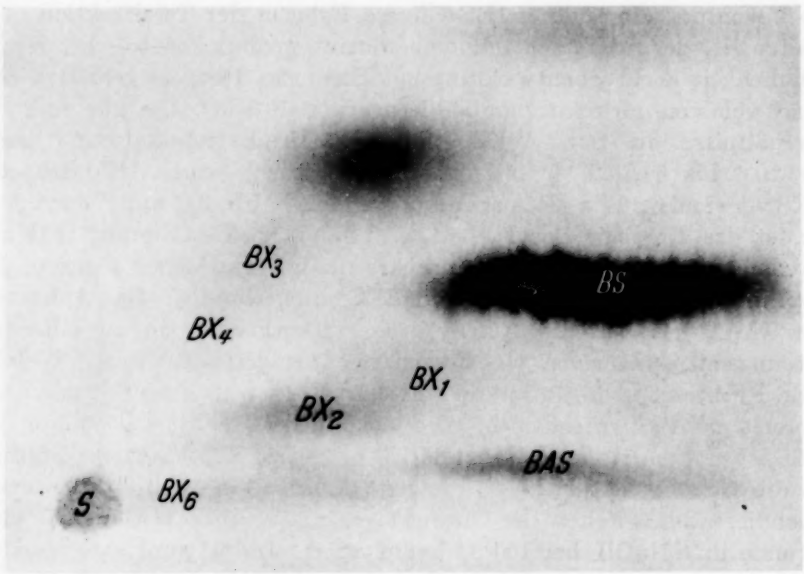


Abb. 6. Autoradiogramm eines 2-dimensionalen Chromatogramms von 10 am Startfleck aufgedrückten WKZ, die 4 Std in ^{14}C-markierter Benzoesäure ($6 \cdot 10^{-4}$ m) inkubiert waren. Erläuterungen wie zu Abb. 3

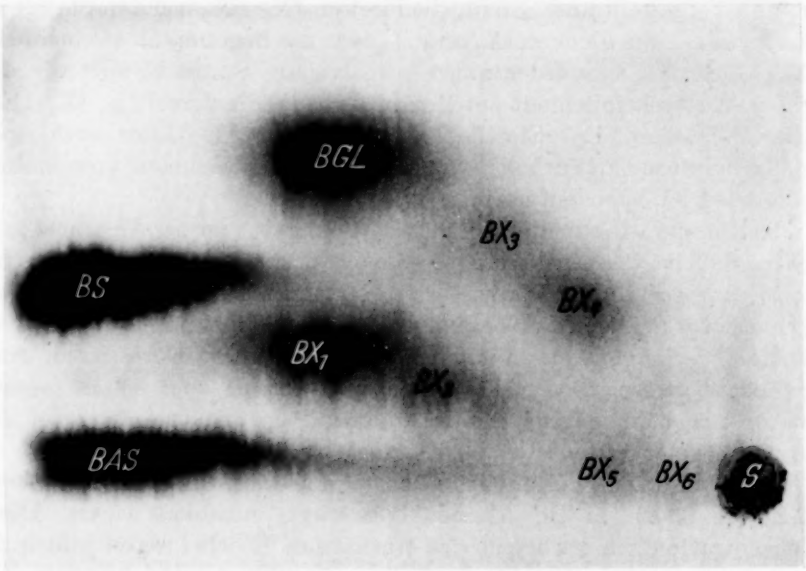


Abb. 7. Autoradiogramm wie Abb. 6 aber nach 22stündiger Inkubation. Erläuterungen wie zu Abb. 3

gramme bestätigen die Annahme. Der Benzolkern ist im Vergleich zum Indolkern wesentlich indifferenter, was sich durch bessere Fleckbildung

auf den Chromatogrammen ausdrückt. Der neben BS und Benzoylasparaginsäure (BAS) radioaktivste Fleck entspricht auch hier wieder dem Glucose-Derivat (BGl). Auch hier wurden Versuche unternommen, den Ester aufzuklären. d-Glucose-6-benzoat (Beilstein-Zitat H. 31, 123) wurde hergestellt und auch kristallin erhalten. Um zusätzlich noch d-Glucose-1-benzoat für den Vergleich heranziehen zu können, wurde eine einfache Präparation gewählt, die die Darstellung über Acetobromglucose (Beilstein H. 31, 148) mit nachfolgender, durchaus fraglicher, selektiver Hydrolyse der Acetylreste umgeht. (d-Glucose-1-Benzoat habe ich nicht beschrieben gefunden.) Da das Acetalhydroxyl des Kohlenstoffatoms I der Glucose ganz besonders reaktionsfähig ist, mußte erwartet werden, daß äquimolare Mengen von βd-Glucose und Benzoylchlorid in Pyridin den gesuchten 1-Benzoylglucose-Ester ergeben. Papierchromatographisch konnte ich neben einem Rest Glucose zwei Benzoylglucose-Ester (I, II) aus dem Reaktionsansatz trennen, die sich beide von Glucose-6-benzoat unterscheiden. Alle drei Glucose-Ester wurden mit der Benzoylglucose aus WKZ papierchromatographisch verglichen. Die Chromatogramme wurden mit dem Silbernitrat-Reagens besprüht. Die Reduktion des Silbernitrats erfolgte leicht im warmen Luftstrom.

Tabelle

R_f-Werte von verschiedenen Benzoylglucose-Estern (absteigend chromatographiert)

Präparat	Isopropanol-NH_3-Wasser (80:15:5)	Butanol-Ameisensäure-Wasser (10:1:2)	Bemerkungen
Benzoylglucose aus WKZ	0,75	0,74 0,79	—
d-Glucose-6-benzoat	0,76	0,79	—
Benzoylglucose I . .	0,75	0,74	wahrscheinlich d-Glucose-1-benzoat
Benzoylglucose II. .	0,89	0,93	wahrscheinlich d-Glucose-1,6-dibenzoat

An Hand der Tabelle können wir die R_f-Werte vergleichen. Es ist kein absolutes Maß, die R_f-Werte derart verwandter Substanzen in Beziehung zu ihren hydrophilen bzw. hydrophoben Eigenschaften zu setzen, dennoch werden die R_f-Werte immer wieder zu derartigen Überlegungen herangezogen. Es darf als wahrscheinlich angenommen werden, daß der Glucose-1-Ester mit der freien Hydroxylgruppe am nicht ringständigen 6. C-Atom geringfügig hydrophiler ist als der entsprechende Glucose-6-Ester. Der 2. Glucose-Ester, der bei der Reaktion äquimolarer Mengen von βd-Glucose mit Benzoylchlorid auftritt, dürfte nach der Reaktionsfähigkeit auch der Hydroxylgruppe des 6. C-Atoms der Glucose der Glucose-1,6-dibenzoylester sein. Nach den mitgeteilten R_f-Werten der natürlichen Benzoylglucose — Tabelle — ist es wahrscheinlich, daß

sowohl der 1- als auch der 6-Benzoylglucose-Ester in der Pflanze gebildet wird. Da der Anteil des 1. Esters nach kurzen Inkubationszeiten gegenüber dem 2. größer erscheint, liegt es nahe anzunehmen, daß er primär gebildet wird und später eine Transacylierung erfährt.

Alle übrigen Reaktionsprodukte der BS sind vorläufig unbekannt. Besonders bemerkenswert erscheint die zeitliche Folge des Auftretens verschiedener Reaktionsprodukte. Während nach 4stündiger Inkubation

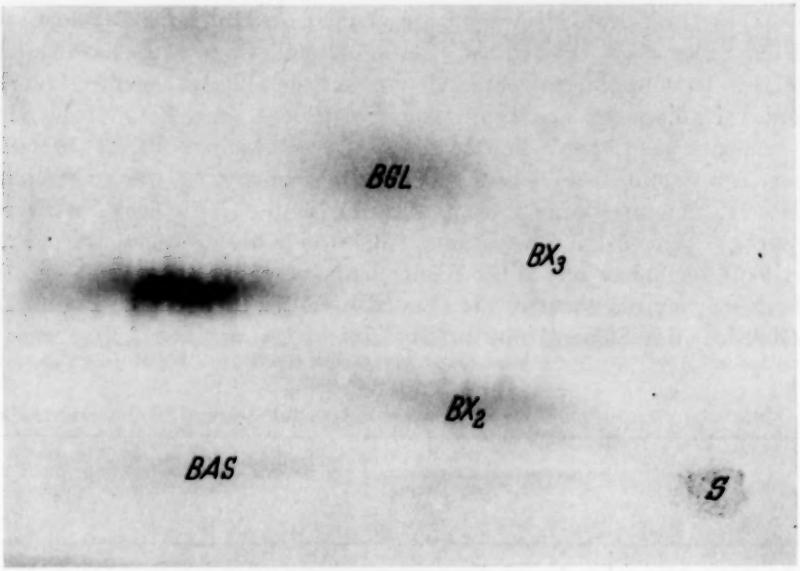


Abb. 8. Autoradiogramm eines 2-dimensionalen Chromatogramms von 10 am Startfleck aufgedrückten WKZ, die 4 Std in ^{14}C-markierter Benzoesäure ($6 \cdot 10^{-5}$ m) inkubiert waren. Erläuterungen wie zu Abb. 3

gut nachweisbare Mengen von BGl, BAS und BX_2 gefunden wurden, tritt BX_1 erst nach 22stündiger Inkubation, dann aber in großen Mengen auf. BX_2 nimmt in dieser Zeit nur wenig zu. Das gleiche gilt für die Flecken BX_3 und BX_4, jedoch in einem geringeren Konzentrationsbereich. Daß diese Zunahme und die Vielzahl der Reaktionsprodukte zu der Hemmwirkung der BS in diesem Konzentrationsbereich keine Beziehung besitzen, zeigen die Abb. 8 und 9. Hier wurden die WKZ in $6 \cdot 10^{-5}$ m BS inkubiert, wodurch das Wachstum der WKZ nicht beeinflußt wurde. Die Autoradiogramme zeigen die entsprechenden Flecken der Abb. 6 und 7, es ist lediglich der erwartungsgemäße quantitative Unterschied zu beobachten.

Wenn wir die Autoradiogramme der WKZ nach IES-Inkubation mit jenen nach BS-Inkubation vergleichen, so stellen wir fest, daß jeweils 9 bzw. 8 Reaktionsprodukte auftreten. Von diesen ist das Asparagin-

säure-Derivat bereits beschrieben. Zusätzlich konnten für beide aromatischen Säuren 1—2 Glucose-Ester identifiziert werden. Die 6 restlichen papierchromatographisch getrennten und die im Startfleck vereinigten Reaktionsprodukte sind unbekannt. Während die Stoffwechselprodukte der IES IX_3, IX_4, IX_5 und IX_6 mit jenen der BS BX_3, BX_4, BX_5 und BX_6 in ihren R_f-Werten gut übereinstimmen und folglich als entsprechende Produkte der Säuren mit gleichen Reaktionspartnern

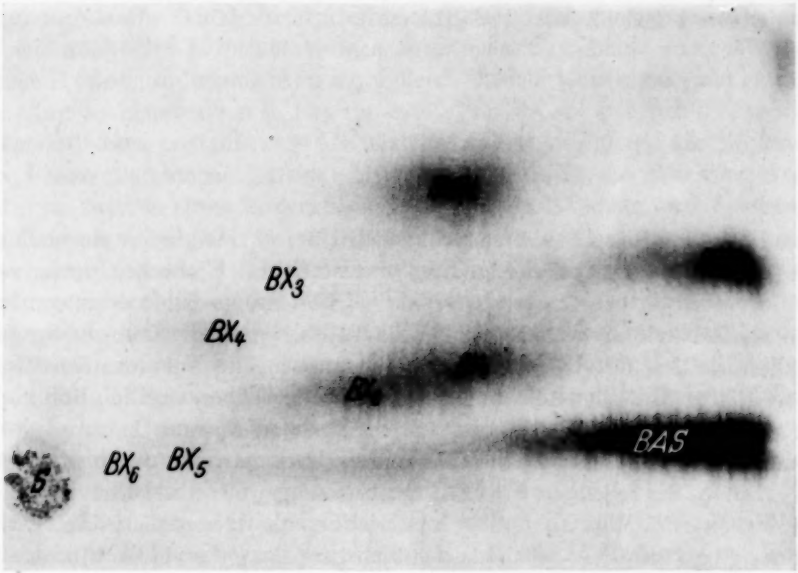
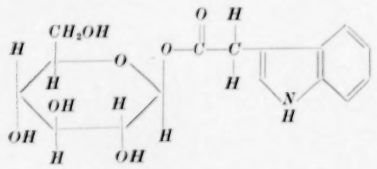


Abb. 9. Autoradiogramm wie Abb. 8, aber nach 22stündiger Inkubation. Erläuterungen wie zu Abb. 3

angesehen werden können, differieren IX_1 und IX_2, die nicht immer mit Sicherheit bestimmbar sind, erheblich von BX_1 und BX_2. Ein Vergleich dieser Substanzen ist folglich zunächst nicht möglich. Daher kann auch der interessante Befund, daß BX_1 nach 4 Std auftritt, BX_2 aber erst nach 22 Std in sehr großen Mengen nachgewiesen werden kann, ohne daß BX_1 in dieser Zeit bedeutend vermehrt wurde, für die Reaktionsprodukte der IES nicht geprüft werden. Die Substanzen BX_3 und BX_4 lassen einen ähnlichen Wechsel erkennen, der für die entsprechenden IES-Derivate — IX_3 und IX_4 — bestätigt werden konnte. IX_5 und IX_6 treten besonders deutlich hervor, während die vergleichbaren BS-Derivate nur schwach nachweisbar sind. Dieses unterschiedliche Auftreten braucht keine Beziehung zum Wachstum zu besitzen, und bevor nicht die chemische Natur dieser Reaktionsprodukte bekannt ist, kann darüber nichts ausgesagt werden.

Diskussion

Nachdem mit großer Wahrscheinlichkeit nachgewiesen werden konnte, daß WKZ nach Inkubation in IES-Lösungen nicht nur IAAS enthalten, sondern auch ätherunlösliche IES-Ester (KLÄMBT 1961), bringt die vorliegende Arbeit den eindeutigen Beweis dafür. WKZ bilden schon nach 4stündiger Inkubation erhebliche Mengen eines Indol-3-acetyl-glucose-Esters, der ätherunlöslich ist. Da etwa $^4/_5$ eines Rohpräparates sich durch Emulsion in Glucose und IES spalten läßt, wird angenommen, daß es sich um 1-Indol-3-acetyl-βd-glucose



handelt. (Der Rest kann eventuell 6-Indol-3-acetyl-d-glucose darstellen.) Außerdem konnten papierchromatographisch mit Sicherheit sechs verschiedene noch unbekannte radioaktive Flecken nachgewiesen werden, die als Reaktionsprodukte der IES aufzufassen sind. Das gleiche gilt wahrscheinlich für eine Reihe von Substanzen, die auf dem Startfleck wegen ihrer Unlöslichkeit in Alkoholen liegen bleiben und folglich nicht getrennt werden. Für die Substanzen IX_5 und IX_6 und für mindestens eine Komponente des Startfleckes konnte die Esternatur durch n NaOH-Hydrolyse, die in jedem Fall IES ergab, nachgewiesen werden.

TABONE u. Mitarb. (1953) beschrieben die biosynthetische Esterbildung von βd-Glucose und Indol-3-propionsäure durch Bacillus megatherium. Sie fütterten den Mikroorganismus mit beiden Substanzen und erhielten drei verschiedene Ester dieser beiden Reaktionspartner. Ein Ester konnte als 1-Indol-3-propionyl-βd-glucose identifiziert werden.

Um Indol-3-acetyl-arabinose handelt es sich offenbar (POLLARD 1960, briefliche Mitteilung) bei der glykosidisch gebundenen IES, die im Milchsaft von unreifen Maiskaryopsen gefunden wurde (SHANTZ und STEWARD 1957).

Ein weiterer IES-Kohlenhydrat-Ester ist Indol-3-acetyl-glucuronsäure (JEPSON 1958). Diese Substanz wurde im Urin gefunden und muß als Entgiftungsprodukt angesehen werden. Auch dieser Ester wird durch Emulsin gespalten, so daß IES wahrscheinlich am 1. C-Atom der Glucuronsäure in β-Stellung verestert ist. Im tierischen Organismus ist Glucuronsäure neben Glycin bekannter Reaktionspartner bei Entgiftungsreaktionen (BRAY, THORPE und WHITE 1951). Einer derartigen Reaktion entspricht auch die Veresterung der Indol-3-propionsäure mit Glucose durch Bacillus megatherium. Für den Arabinose-Ester der IES in Maismilch kann dies nicht ohne weiteres angenommen werden.

In unserem Fall der IGl-Bildung müssen wir zunächst eine Entgiftungsreaktion sehen. Ob sie jedoch als einzige Erklärung ausreicht, oder ob der Ester eventuell in das Wachstum eingreift, kann heute noch nicht entschieden werden. Wenn wir für das Streckungswachstum den Einbau neuer Cellulosemoleküle in das vorhandene Wandgerüst fordern, dann ist es gut vorstellbar, daß Wuchsstoff-Glucose-Ester irgendeine Funktion dabei erfüllen könnten. Es ist zu früh, verschiedene Vorstellungen auszuführen. Auf die Träger-Theorie der Stoffaufnahme, wie sie Rosenberg u. Mitarb. (1956) in Modellversuchen an Erythrocyten erläutert haben, möchte ich jedoch hinweisen, ohne meine Ergebnisse zur Stützung dieser Hypothese heranziehen zu wollen. In den Versuchen geht es um die Glucose-Penetration in Erythrocyten, für die sie eine stark lipophile Trägersubstanz postulieren. Als Modellsubstanz benutzten sie BS bzw. die Benzoyl-6-glucose. Diese Hypothese schließt die Wirkung von 2 Enzymen bzw. eines Enzympaares ein, das die Bindung und Spaltung des Komplexes jeweils vor und hinter der Penetrationsbarriere katalysieren muß. Auch die Plasmamembranen stellen nach gewissen Vorstellungen Lipoidfilme dar, die für maximal hydrophile Substanzen nur bedingt permeabel sind (Höfler 1959 verlegt diese Eigenschaften der Plasmamembranen in das gesamte Plasma). Aus diesem Grund können wir auch mit Glucose plasmolysieren. Geringe Mengen dringen natürlich ein, was die Grenzplasmolysen bei wiederholter Plasmolyse beweisen, die immer höhere Konzentrationen erfordern. Diskutabel bleibt also die Glucoseveresterung, die ein leichteres und schnelleres Hindurchtreten des Wandbausteins durch das Plasma bewirken müßte. Diese Reaktion (Wuchsstoff-Kohlenhydrat-Veresterung) und die diskutierte mögliche Funktion der Reaktionsprodukte können aber nicht allein wachstumsfördernd sein, da für BS die gleiche Reaktion nachgewiesen wurde und eine gleiche Permeationsfunktion angenommen werden muß.

Die Versuche mit radioaktiv markierter BS ergaben ganz entsprechende Ergebnisse. Die Hauptaktivität konnte neben der BS und Benzoylasparaginsäure im Benzoylglucose-Fleck gemessen werden, so daß auch die BS zu einem großen Teil mit Glucose verestert wird. Darin müssen wir sicher, wie bei jener der IES, eine Entgiftungsreaktion sehen. Beim papierchromatographischen Vergleich konnte wahrscheinlich gemacht werden, daß der natürliche Ester sowohl βd-Glucose-1-benzoat als auch βd-Glucose-6-benzoat enthält, wovon der erste wohl primär gebildet wird.

Griebel (1910) beschrieb einen Benzoylglucose-Ester (Vacciniin), der zu etwa 0,1% im Saft der Preißelbeere — *Vaccinium Vitis Idaea* L. — enthalten ist. Ohle (1922) identifizierte Vacciniin mit Glucose-6-benzoat. Möglicherweise stellt Glucose-6-benzoat als der energieärmere Glucose-Ester die Akkumulationsform dieses Entgiftungsproduktes dar.

Auffallend ist die große Deutlichkeit der radioaktiven Flecken Welche Substanzen in den Flecken BX_1 bis BX_6 und im Startfleck vorliegen, ist auch hier unbekannt.

Für die Aufklärung des physiologischen Ablaufs des durch Wuchsstoff angeregten Streckungswachstums ist die weitere Identifizierung der auftretenden Reaktionsprodukte der Wuchsstoffsäuren jedoch eine Voraussetzung, ohne die eine Diskussion schlechterdings nicht möglich ist.

Zusammenfassung

Stoffwechselprodukte der Indol-3-essigsäure und der Benzoesäure, die nach entsprechender Inkubation in Weizenkoleoptilzylindern auftreten, wurden papierchromatographisch untersucht.

1. Jede Extraktion — die immer nur einen Teil der organischen Substanzen erfaßt — wurde umgangen und jeweils 10 Weizenkoleoptilzylinder fleckförmig auf Chromatographierpapier aufgedrückt und anschließend 2-dimensional getrennt.

2. Neben Indol-3-essigsäure, worin Koleoptilzylinder 22 Std inkubiert wurden, konnten Indol-3-acetylasparaginsäure und bis zu 8 weitere Reaktionsprodukte der IES getrennt und nachgewiesen werden. Außerdem zeigt der Startfleck bei markierten Inkubationssubstanzen Radioaktivität.

3. Ein in größeren Mengen auftretendes Reaktionsprodukt konnte als Indol-3-acetylglucose identifiziert werden. Die fermentative Spaltung durch Emulsin läßt für $^4/_5$ des Rohpräparates auf den 1-Indol-3-acetyl-βd-glucose-Ester schließen.

4. Für 3 Reaktionsprodukte — IX_5, IX_6 und Startfleck — ließ sich die Esternatur eindeutig nachweisen.

5. Benzoesäure wird von den Koleoptilzylindern bei entsprechender Inkubation zur Bildung entsprechender Stoffwechselprodukte verwendet.

6. Es tritt neben Benzoylasparaginsäure Benzoylglucose auf, die durch R_f-Wert-Vergleich mit synthetischen Substanzen wahrscheinlich βd-Glucose-1-benzoat und d-Glucose-6-benzoat darstellt.

7. Alle übrigen Reaktionsprodukte der Benzoesäure sind bisher in ihrer chemischen Natur unbekannt.

8. Die Bildung der Glucose-Ester der Indol-3-essigsäure und der Benzoesäure läßt zunächst auf eine Entgiftungsreaktion schließen. Es wird eine Art Schlüsselstellung der Wuchsstoff-Glucose-Ester diskutiert, da eine Beziehung dieser Substanzen zur Cellulosesynthese möglich ist.

9. Die Glucose-Permeation durch Plasmagrenzschichten wird sicher durch derartige Glucose-Ester verbessert, ob sie im Sinne der Trägerhypothese (ROSENBERG u. Mitarb. 1956) zu deuten sind, kann vorerst nicht entschieden werden.

Fräulein INGRID BLECHSCHMIDT danke ich für ihre zuverlässige Arbeit; der Deutschen Forschungsgemeinschaft für die Gewährung der Sachbeihilfe.

Literatur

ANDREAE, W. A., and N. E. GOOD: The formation of indoleacetylaspartic acid in pea seedlings. Plant Physiol. **30**, 380—382 (1955).

— — Studies on 3-indolacetic acid metabolism. IV. Conjugation with aspartic acid and ammonia as processes in the metabolism of carboxylic acids. Plant Physiol. **32**, 566—572 (1957).

BEILSTEINS Handbuch der organischen Chemie, Bd. XXXI. Berlin: Springer 1938.

BENNET-CLARK, T. A., and A. W. WHEELER: The metabolism of 3-indolacetic acid in plant tissues. J. exp. Bot. **10**, 468—479 (1959).

BRAY, H. G., W. V. THORPE and K. WHITE: Kinetic studies of the metabolism of foreign organic compounds. I. Formation of benzoic acid from benzamid, toluene, benzylalcohol and benzaldehyde and its conjugation with glycin and glucuronic acid in the rabbit. Biochem. J. **48**, 88—96 (1951).

GRIEBEL, C.: Beiträge zur Kenntnis der chemischen Zusammensetzung der Preißelbeeren, Moosbeeren und Kranbeeren. Chem. Zbl. **1910**, 1540—1543.

HÖFLER, K.: Permeabilität und Plasmabau. Ber. dtsch. bot. Ges. **72**, 236—245 (1959).

JEPSON, J. B.: Indolylacetamide: a chromatographic artifact from the natural indoles, indolylacetylglucosiduronic acid and indolepyruvic acid. Biochem. J. **69**, 22(1958).

KLÄMBT, H. D.: Wuchsstoffhaushalt von IES-induzierten Weizenkoleoptilzylindern. Vortrag auf der Tagg der Dtsch. Bot. Ges., Köln, 1960a.

— Indol-3-acetylasparaginsäure, ein natürlich vorkommendes Indolderivat. Naturwissenschaften **47**, 398 (1960b).

— Wachstumsinduktion und Wuchsstoffmetabolismus im Weizenkoleoptilzylinder. Reaktionsprodukte der IES in Abhängigkeit von den Inkubationskonzentrationen. Planta (Berl.) **56**, 309—321 (1961).

OHLE, H.: Zur Konstitution des Vacciniins. Biochem. Z. **131**, 611—613 (1922).

ROSENBERG, TH., B. VESTERGAARD-BOGIND u. W. WILBRANDT: Modellversuche zur Trägerhypothese von Zuckertransporten. Helv. physiol. Acta **14**, 334—341 (1956).

SHANTZ, E. M., and F. C. STEWARD: The growth stimulating substances in extracts of immature corn grains. Plant Physiol. **32**, VIII (1957).

TABONE, J., and D. TABONE: Bio-estèrification du glucose. V. Biosynthèse par bacillus megatherium de l'ester β-glucosidique de l'acide indolpropioníque. C. R. Acad. Sci. (Paris) **237**, 943—944 (1953).

ZENK, M. H.: Über den Stoffwechsel von Naphthylessigsäure in höheren Pflanzen. Vortrag auf der Tagg der Dtsch. Bot. Ges., Köln, 1960.

Dr. HANS-DIETER KLÄMBT,
Botanisches Institut der Universität, Bonn a. Rh.,
Meckenheimer Allee 170

Planta 56, 632—647 (1961)

Aus dem Botanischen Institut der Universität Tübingen

DER EINFLUSS DES LICHTES AUF DIE BEWEGUNG DER CYANOPHYCEEN

I. Mitteilung

PHOTO*TOPO*TAXIS VON *PHORMIDIUM AUTUMNALE*

Von

WILHELM NULTSCH

Mit 4 Textabbildungen

(Eingegangen am 26. Januar 1961)

Die phototaktischen Reaktionen der Cyanophyceen sind schon mehrfach Gegenstand wissenschaftlicher Untersuchungen gewesen. Hinsichtlich der älteren Literatur sei auf die ausführlichen Zusammenfassungen von HAUPT (1959) und BENDIX (1960a, b) verwiesen. Aus neuester Zeit liegen eingehende Untersuchungen von DREWS (1957, 1959) vor.

Soweit sich übersehen läßt, sind alle bisher daraufhin untersuchten Arten zu topischen Reaktionen befähigt, d.h. sie sammeln sich bei einseitiger Beleuchtung an der dem Licht zugekehrten oder, bei negativer Reaktion, an der lichtabgewandten Seite des Versuchsgefäßes an. Darüber hinaus sind viele, nach den Feststellungen von DREWS jedoch keineswegs alle Arten auch zu phobischen Reaktionen befähigt, d.h. sie reagieren auf eine Erniedrigung der Intensität mit einer Bewegungsumkehr und sammeln sich infolgedessen in einer Lichtfalle an. Bei negativer Phobotaxis zeigen sie das umgekehrte Verhalten. Während wir über den Verlauf sowohl der topischen als auch der phobischen Reaktionen heute schon recht gut informiert sind, wissen wir doch über eventuelle Beziehungen zwischen Topotaxis und Phobotaxis so gut wie nichts.

Auch über die phototaktische Wirksamkeit einzelner Spektralbereiche liegen nur wenige, sich teilweise widersprechende Angaben vor. Soweit es sich dabei um ältere Untersuchungen handelt, bei denen mit farbigen Lösungen oder einfachen Farbgläsern gearbeitet wurde, kommt ihnen ohnehin nur ein geringer Wert zu. Die Frage wird noch dadurch kompliziert, daß sich einerseits die einzelnen Arten in ihrem Reaktionsverhalten unterscheiden, andererseits aber auch Phobotaxis und Topotaxis offensichtlich ein verschiedenes Aktionsspektrum besitzen. DREWS konnte mit Hilfe von Interferenzfiltern bereits wirksame und weniger wirksame, zum Teil auch völlig unwirksame Spektralbereiche ermitteln. Da er jedoch nicht mit energiegleichem Licht arbeitete und außerdem

die Versuche nicht quantitativ auswertete, war er zur Aufnahme eines Aktionsspektrums nicht in der Lage. Der von ihm vermutete Zusammenhang der spektralen phototaktischen Empfindlichkeit der Cyanophyceen mit ihrem Pigmentgehalt hat daher zunächst nur den Wert einer Arbeitshypothese.

Schließlich wissen wir auch über den Einfluß von Außenfaktoren, insbesondere des Lichtes, auf die Bewegungsgeschwindigkeit nicht viel mehr als eben die Tatsache, daß solche Einflüsse existieren. So kennen wir bei der Photokinesis, die uns hier im besonderen interessiert, weder das Aktionsspektrum, noch wissen wir, ob und in welcher Weise sie mit den beiden Erscheinungsformen der Phototaxis in Zusammenhang steht.

Es wurde deshalb mit einer Reihe von Untersuchungen begonnen, die das Ziel haben, einige der vorstehend aufgeworfenen Fragen zu klären. In der vorliegenden ersten Arbeit, die das photo*topo*taktische Verhalten von *Phormidium autumnale* behandelt, wird über eine Methode zur quantitativen Ermittlung des topotaktischen Reaktionserfolges sowie über die ersten mit dieser Methode erzielten Ergebnisse bei Versuchen mit weißem und monochromatischem Licht berichtet.

Material und Kulturmethodik

Phormidium autumnale (Ag.) Gom. wurde von der Erde eines im Gewächshaus stehenden Blumentopfes, der mit Moos bewachsen war, isoliert. Infolge ihrer guten Beweglichkeit entfernten sich die Trichome in den Rohkulturen rasch vom Impffleck. Einzeln liegende Fäden wurden ausgestochen und auf eine neue Platte übertragen. Die auf diese Weise erhaltenen speciesreinen Kulturen waren natürlich nicht bakterienfrei, doch störten die Bakterien bei den von uns verfolgten Zwecken nicht.

Die Bestimmung erfolgte nach dem Geitlerschen Schlüssel (1932). Da unsere Form jedoch in einigen Punkten von GEITLERS Diagnose abweicht, wie sich ja die kultivierten und die natürlich vorkommenden Formen ein und derselben Art häufig in einigen Merkmalen unterscheiden (DEMETER 1956), sei nachstehend eine kurze Charakteristik der untersuchten Form gegeben, die aber nur für das unter den unten angegebenen Bedingungen kultivierte Material Gültigkeit hat.

Trichome gerade, an den Querwänden nicht eingeschnürt, 5—6 μ breit. Länge der Zellen etwa 2—4,5 μ, also kürzer als breit. Quadratische Zellen wurden nie beobachtet. Die Enden der Trichome sind schwach gebogen und allmählich verjüngt. Kopfig ausgestaltete Endzellen finden sich in der Kultur nur verhältnismäßig selten, da man meist auf frische Bruchstellen trifft. Kopfige Endzellen mit abgerundeter Calyptra. Die Scheiden sind, auch nach Einbringen in Burritusche, kaum zu erkennen. Lediglich an den Bruchstellen, an denen sie meist über das Trichomende hinausragen, lassen sie sich mit Sicherheit ausmachen. Mit Chlorzinkjod geben sie keine violette Färbung.

Die Färbung der Kulturen ist, wenn die Bedingungen nicht streng konstant gehalten werden, außerordentlich variabel, ändert sich aber auch dann noch mit zunehmendem Alter. Durchweg erscheinen sie sehr dunkel, meist braungrün, manchmal fast schwarz. Auf Filterplatten wachsen sie ausgesprochen violett. Ältere Kulturen verfärben sich rotbraun bis violett. Es ist also fast unmöglich, mit einem

Material von stets gleichbleibendem Pigmentgehalt zu arbeiten, was die Versuchsergebnisse natürlich beeinflußt, wie unten noch auszuführen sein wird.

Als Kulturmedium diente die Nährlösung nach STARR (1960) folgender Zusammensetzung: 5 g KNO_3, 0,1 g K_2HPO_4, 0,05 g $MgSO_4 \cdot 7\,H_2O$, Spur Eisenammoniumcitrat, mit Aqua dest. auf 1000 ml. Obwohl *Ph. autumnale* auch in Flüssigkeitskulturen gedeiht, sind für phototaktische Versuche Oberflächenkulturen vorteilhafter. Allerdings dringen die Trichome bei niedrigen Agarkonzentrationen (1,5% und darunter) in den Nährboden ein und durchwachsen die ganze Platte, so daß sie sich nicht mehr von der Kulturplatte abheben lassen. Andererseits breiten sie sich auf Platten mit höherer Agarkonzentration nur langsam aus, und man erhält auf diese Weise selten gut bewegliches und für Versuche geeignetes Material. Nach mehrfacher Modifikation der Kulturbedingungen erhielten wir die besten Ergebnisse mit 2%igen Agarplatten, deren Oberfläche durch Überschwemmen mit destilliertem Wasser ständig feucht gehalten wurde. Die Steifheit des Mediums verhindert das Eindringen der Trichome völlig, und der Flüssigkeitsfilm auf der Agaroberfläche ermöglicht eine ungehinderte Ausbreitung. Sehr günstige Resultate ergab auch die Kultur auf den von DREWS (1955) empfohlenen Glasfilterplatten. Allerdings sind die Schwankungen im Pigmentgehalt bei Anwendung dieser Methode noch stärker, weshalb den Agarplatten der Vorzug gegeben wurde.

Die Kultur erfolgte bei Dauerlicht (2000 Lux) und Zimmertemperatur. Jeden Tag wurden 2—3 Platten mit gut beweglichem Material im Zentrum beimpft. Nach etwa 5—7 Tagen war dann die gesamte Oberfläche der Platte gleichmäßig bewachsen. Wie die Erfahrung lehrte, waren die Trichome zu diesem Zeitpunkt gut beweglich, weshalb nur solche Kulturen für die phototaktischen Versuche benutzt wurden. Dennoch war die Beweglichkeit des Materials von verschiedenen Platten ein und derselben Serie nicht immer gleichmäßig gut, ohne daß hierfür ein Grund angegeben werden könnte. Es wurde deshalb vor Beginn eines jeden Versuches eine Testplatte angesetzt, auf die kleine Mengen der in Frage kommenden Kulturen übertragen wurden. Für die phototaktischen Versuche wurde dann nur solches Material benutzt, das auf den Testplatten nach 2—3 Std einen Ausbreitungshof von 1,5—2 cm Durchmesser zeigte.

Die Versuchsanordnung

Auf Grund der Erfahrungen von DREWS und einigen älteren Autoren, wonach die Cyanophyceen auf einem salzfreien und relativ schwachprozentigen Agar die größte Kriechgeschwindigkeit entwickeln, wurde als Substrat für die phototaktischen Versuche ein 0,5%iger Wasseragar benutzt, auf dem *Ph. autumnale* eine Durchschnittsgeschwindigkeit von 130 μ/min entwickelt. Als Maximalgeschwindigkeit wurden 168 μ/min gemessen. Die Neigung zur Bildung strangförmiger Kriechverbände ist auf diesem Substrat gering. Die Trichome kriechen überwiegend einzeln oder in dünnen Strängen von 3—5 Fäden.

Im Prinzip entsprach die Versuchsanordnung der von DREWS gewählten. Die mit einer dünnen Schicht Wasseragar bedeckten Versuchsschalen (Petrischalen von 100 mm Durchmesser) wurden mit Glasplatten abgedeckt und so aufgestellt, daß das Licht einseitig in einem Winkel von etwa 10° einfiel. Die Versuchsdauer betrug bei den Weißlichtversuchen in der Regel 24, bei den Versuchen mit monochromatischer Strahlung 16 Std. Um von vornherein eine Störung der Versuche durch eventuelle, im vorliegenden Falle allerdings nicht beobachtete tagesperiodische Schwankungen der phototaktischen Sensibilität (vgl. POHL 1948) auszuschließen, wurden alle Versuche einheitlich nachmittags in der Zeit von 16—17 Uhr angesetzt und am nächsten Tage, der Versuchsdauer entsprechend, ausgewertet. Auch jahreszeitliche Schwankungen der phototaktischen Empfindlichkeit, wie sie GÖSSEL (1957) bei Euglenen vermutete, wurden bei *Ph. autumnale* nicht festgestellt.

Die Weißlichtversuche wurden in einer Dunkelkammer auf einer etwa 2 m langen optischen Bank durchgeführt. Als Lichtquellen dienten Glühlampen von 15, 40, und 100 W der Normalausführung. Für Versuche mit höheren Intensitäten wurde eine Nitraphotlampe von 500 W benutzt. Mehrere Schalen wurden in verschiedenen Abständen von der Lichtquelle aufgestellt und die jeweils herrschende Beleuchtungsstärke mit einem Luxmeter gemessen, ohne Berücksichtigung der Absorptions- und Reflexionsverluste. Auf diese Weise konnte die Beleuchtungsstärke in einem Bereich von 1—10000 Lux variiert werden. Die Temperatur der Kammer lag zwischen 20 und 25°.

Die Versuche mit monochromatischer Strahlung wurden in klimatisierten Interferenzfilter-Monochromatoranlagen durchgeführt, die für Arbeiten mit längerwelliger sichtbarer sowie infraroter Strahlung mit 500 bzw. 750 W-Projektoren, für Arbeiten im kurzwelligen sichtbaren und langwelligen UV-Bereich mit Xenonbögen ausgerüstet waren. Genaue Beschreibungen der beiden Typen finden sich bei Mohr u. Schoser (1959 u. 1960). Die Temperatur der Versuchsräume betrug konstant 20°. Insgesamt standen über 40 Interferenz-Linienfilter der Fa. Schott & Gen., Mainz, zur Verfügung, mit deren Hilfe der gesamte Wellenbereich von 317 bis 800 mμ untersucht werden konnte. Die Wellenlängen der maximalen Durchlässigkeit lagen durchschnittlich 10, im Höchstfalle 20 mμ auseinander. Grundsätzlich wurde mit energiegleicher Strahlung gearbeitet, die durch Einschalten entsprechender Neutralglasfilter bzw. im Falle der Projektoren auch durch Veränderung der Betriebsspannung erhalten wurde. Für die Energiemessungen benutzten wir eine Thermosäule E 1 der Fa. Kipp, die mit einem Micrograph BD2 der gleichen Firma bzw. einem Multiflex-Galvanometer der Fa. B. Lange verbunden war.

Für eine quantitative Auswertung der Versuche, die eine unerläßliche Voraussetzung der Aufnahme exakter Wirkungskurven ist, stehen grundsätzlich 3 Wege offen:

1. Messung der Ansammlungsstärke, die an einer bestimmten Stelle, etwa dem Schalenrand, in einem bestimmten Zeitraum erreicht wird;

2. Messung der Zeit, die zum Zurücklegen einer bestimmten Wegstrecke benötigt wird, und

3. Messung des Weges, der in einer bestimmten Zeit zurückgelegt wird.

Da eine exakte Bestimmung der Ansammlungsstärke bei der gewählten Versuchsanordnung kaum möglich und eine Zeitmessung viel zu umständlich ist, wurde der letzte Weg gewählt.

Wie schon Drews ausführlich beschrieben hat, breiten sich die Cyanophyceen des *Oscillatoria-Phormidium*-Typus auf einer Agarplatte nach allen Seiten gleichmäßig aus, sofern sie senkrecht zu ihrer Bewegungsrichtung belichtet werden. Aus einem punktförmigen Impffleck entsteht hierbei nach einigen Stunden ein kreisförmiger Ausbreitungshof, bei strichförmiger Impfung (Länge des Impfstriches etwa 3 cm) eine Ellipse. Der Durchmesser dieses Hofes läßt sich bei geeigneter Beleuchtung makroskopisch leicht messen. Wird nun die Versuchsschale einseitig beleuchtet, und zwar so, daß der Impfstrich senkrecht zur Lichtrichtung steht, dann verschiebt sich diese Ellipse bei positiv topotaktischer Reaktion zur Lichtquelle hin, bei negativer in entgegengesetzter Richtung (vgl. Abb. 7—9 bei Drews 1959). Dabei ist, wie die

Vorversuche mit *Ph. autumnale* zeigten, diese Verschiebung um so stärker, je größer die topotaktische Wirksamkeit der gewählten Beleuchtungsverhältnisse ist.

Bezeichnet man den der Lichtquelle zugekehrten Halbmesser der idealisierten Ellipse mit s_1, den gegenüberliegenden mit s_2, so ist bei topotaktisch indifferentem Verhalten bzw. bei senkrecht von oben einfallender Beleuchtung innerhalb einer gewissen Grenze $s_1 = s_2$ (Abb. 1a). Bei positiver Reaktion wird $s_1 > s_2$ (Abb. 1 b, c), bei negativer Reaktion entsprechend $s_1 < s_2$. Bildet man nun die Differenz dieser beiden in Millimeter gemessenen Strecken, so erhält man einen Wert, der die Stärke der topotaktischen Reaktion zahlenmäßig zum Ausdruck bringt.

a b c

Abb. 1a—c. Schematische Darstellung der Ausbreitung von *Ph. autumnale* auf einer Agarplatte im phototopotaktischen Versuch. a Bei indifferentem Verhalten; b bei positiver Reaktion (Lichteinfall von links). Das Verhältnis $s_1 : s_2$ beträgt hier 2:1, entsprechend einem Reaktionswert $R_t = 33{,}3$. c Bei stark positiver Reaktion, entsprechend einem Reaktionswert von 100 %

Wesentlich genauer wäre es natürlich, jeweils über den lichtzugekehrten und den lichtabgewandten Flächenabschnitt der Ellipse zu integrieren und diese beiden Werte zueinander in Beziehung zu setzen. Da außerdem die Trichome nicht in allen Abschnitten des Ausbreitungshofes gleichmäßig dicht liegen, könnte man sogar daran denken, auf photometrischem Wege auch diese Dichteunterschiede, und zwar ebenfalls über die beiden entsprechenden Flächenabschnitte der Ellipse integrierend, zu bestimmen, um ganz exakte Verteilungswerte zu erhalten. Allerdings würde ein solches Verfahren verhältnismäßig komplizierte Apparaturen und einen erheblichen Zeitaufwand erfordern, und da ja auch die einfache Streckenmessung befriedigende Resulate ergab, wurde ihr der Vorzug gegeben.

Wie sich allerdings sehr bald herausstellte, sind die auf diese Weise erhaltenen Absolutwerte aus verschiedenen Versuchen, trotz gleichbleibender Versuchsbedingungen, nicht ohne weiteres miteinander vergleichbar, da einerseits die Beweglichkeit des Materials aus verschiedenen Kulturen nicht immer ganz gleich ist, andererseits aber auch die einzelnen Bestrahlungsprogramme einen unterschiedlichen photokinetischen Effekt zeigen. Die in der Zeiteinheit zurückgelegten Gesamtwege $s_1 + s_2$, die den Ellipsendurchmessern entsprechen, weichen also in den einzelnen Versuchen stark voneinander ab (vgl. Tabelle). Infolgedessen nehmen natürlich auch die Differenzbeträge $s_1 - s_2$ recht verschiedene Werte an. Will man die jeweils ermittelten Einzelwerte also untereinander vergleichbar machen, muß man sie gewissermaßen mit einer

photokinetischen Korrektur versehen. Dies erreicht man, wenn man als topotaktischen Reaktionswert R_t die Beziehung: $R_t = \frac{s_1 - s_2}{s_1 + s_2} \cdot 100$ verwendet. Dieser Wert gibt also an, um welchen Betrag, ausgedrückt in Prozent des theoretisch möglichen Wertes, der Mittelpunkt der Ausbreitungsellipse, verglichen mit der Normalausbreitung bei senkrecht von oben einfallender Beleuchtung, zur Lichtquelle hin verschoben wird. Die maximal mögliche Verschiebung von 100% ist dann erreicht, wenn $s_2 = 0$, s_1 also gleich $s_1 + s_2$ geworden ist (Abb. 1 c), was allerdings bei *Ph. autumnale* erfahrungsgemäß nur selten vorkommt.

Auch für negative, bei unserem Objekt nicht beachtete Reaktionen ist die gleiche Beziehung anwendbar, nur wird hier natürlich der topotaktische Reaktionswert eine negative Größe.

Tabelle. *Topotaktische Reaktionswerte aus 10 Weißlichtversuchen bei 1000 Lux* (Erklärungen im Text)

s_1 mm	s_2 mm	$s_1 - s_2$	$s_1 + s_2$	$\frac{s_1 - s_2}{s_1 + s_2} \cdot 100$
43	15	28	58	48
23	11	21	43	49
24	8	16	32	50
13	5	8	18	44
20	8	12	28	43
28	7	21	35	60
34	17	17	51	33
37	10	27	47	57
40	18	22	58	46
32	14	18	46	39
			Durchschnitt	46,9

Wie das in der Tabelle wiedergegebene Beispiel zeigt, weisen die Einzelwerte trotz der vorgenommenen Korrektur immer noch eine erhebliche Streuung auf, die im vorliegenden Falle bei einem Durchschnitt von 47 zwischen den Werten 33 und 60 liegt. Im allgemeinen reichen jedoch 10 Wiederholungen aus, um einigermaßen gesicherte Reaktionswerte zu erhalten. Lediglich bei den Versuchen mit monochromatischer Strahlung wurde die Zahl der Wiederholungen in einigen besonders interessierenden Spektralbereichen auf 20 erhöht.

Weißlichtversuche

Obwohl Versuche mit weißem Licht wegen der unterschiedlichen Emissionsspektren der in den verschiedenen Intensitätsbereichen benutzten Lichtquellen nur begrenzten Wert haben, sind sie doch für die ersten orientierenden Versuche kaum zu entbehren. Im vorliegenden Falle wurden sie zur Feststellung des topotaktisch wirksamen Intensitätsbereiches sowie der Schwellenwerte benutzt. Die Unterschiede in der spektralen Emission der Glühlampen ließen sich bis zu einem gewissen Grade dadurch ausgleichen, daß sich die mit den einzelnen Lampen einstellbaren Intensitätsbereiche überlappten, so daß gerade für die Grenzwerte die doppelte Anzahl von Versuchsdaten vorlag.

Zunächst wurde der Intensitätsbereich der topotaktischen Wirksamkeit ermittelt. Die Ergebnisse sind in Abb. 2 graphisch dargestellt.

Danach liegt die Nullschwelle der Photo*topo*taxis unter den gewählten Bedingungen bei 5 Lux. Im Vergleich zu den von DREWS (1959) untersuchten Arten besitzt *Ph. autumnale* also eine mittlere phototaktische Empfindlichkeit.

Im übrigen hat die Reaktionskurve bei halblogarithmischer Darstellung die Gestalt einer Optimumskurve. In Anlehnung an MAINX u. WOLF (1940) verstehen wir unter dem phototaktischen Optimum die Intensität, bei der die Reaktion am ausgeprägtesten erfolgt, bei der also die prozentual stärkste Verschiebung der Ausbreitungsellipse zur Lichtquelle hin festzustellen ist. Im Falle von *Ph. autumnale* liegt es bei etwa

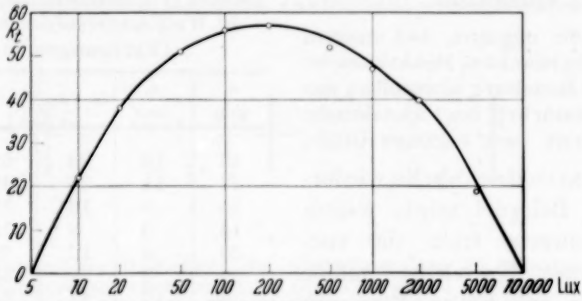


Abb. 2. *Ph. autumnale*. Topotaxis im Weißlicht. Abszisse: Lichtintensität in Lux, Ordinate: Reaktionswert R_t in Prozent

200 Lux. Die Ellipsenverschiebung beträgt an diesem Punkt 55—60%, was ungefähr einem Streckenverhältnis $s_1 : s_2$ wie 4 : 1 entspricht.

Das „phototaktische Maximum", gleichbedeutend mit dem Beginn der Indifferenzzone, liegt bei 10000 Lux. Bei dieser Intensität breiten sich die Cyanophyceen also nach beiden Seiten wieder gleichmäßig aus. Man sollte nun erwarten, daß bei weiterer Intensitätserhöhung negative Reaktionen eintreten. Das ist jedoch nicht der Fall, da *Ph. autumnale* oberhalb 10000 Lux in Lichtstarre verfällt und seine Beweglichkeit ganz einbüßt (negative Photokinesis). Schon bei 10000 Lux ist die Ausbreitung vom Impfstrich gering und oft kaum noch meßbar.

Neben diesen quantitativen Versuchen, bei denen nur das Endergebnis nach mehrstündiger Versuchsdauer ermittelt wurde, führten wir auch Einzelversuche durch, in denen das topotaktische Bewegungsverhalten einzelner Trichome mikroskopisch verfolgt wurde. Als Beleuchtungsstärke wurde vor allem die „optimale" Intensität 200 Lux gewählt, doch wurden auch andere Beleuchtungsstärken geprüft. Die Beobachtungszeit betrug meist 2 Std. Die Bewegungsbahnen wurden in früher beschriebener Weise (NULTSCH 1956) aufgezeichnet. Im übrigen entsprach die Versuchsanordnung der von DREWS (1959).

Nach den Ergebnissen von 30 Einzelbeobachtungen gehört auch *Ph. autumnale* zu dem von NIENBURG (1916) und DREWS (1959) beschriebenen Typ. Liegen die Trichome in der Richtung der Lichtstrahlen, sind die zur Lichtquelle hin zurückgelegten Strecken größer als die in die

entgegengesetzte Richtung führenden. Bei senkrechter Lage der Fäden zur Einfallsrichtung des Lichtes hat dieses dagegen so lange keinen Einfluß auf die Bewegungsrichtung, bis die Fäden zufällig in die Parallelstellung gelangen. In 20 Versuchen, in denen die Fäden senkrecht zum Lichteinfall lagen, konnte nur einem in Falle nach $1^1/_2$stündiger Versuchsdauer ein Einschwenken des betreffenden Trichoms in die Lichtrichtung beobachtet werden, was sicher als zufällig anzusehen ist. Auch *Ph. autumnale* ist also, gleich den von NIENBURG und DREWS untersuchten Formen des *Phormidium*-Types, zu keiner aktiven Steuerbewegung befähigt.

Angeregt durch die neueren Versuche von HAUPT (1960) über die „Phototaxis" der Chloroplasten im polarisierten Licht führten wir kursorisch auch einige vergleichende Versuche mit unpolarisiertem sowie in verschiedener Richtung polarisiertem Licht durch (200 Lux). Diese ergaben jedoch keinerlei Anhaltspunkte für eine verschiedenartige Wirkung der beiden Bestrahlungsarten.

Das Aktionsspektrum

Auf Grund der von DREWS (1959) getroffenen Feststellung, daß einem verhältnismäßig breiten Spektralbereich eine phototaktische Wirkung zukommt, verzichteten wir von vornherein auf die Verwendung der Schott-Farbfiltergläser und benutzten ausschließlich die erwähnten Interferenzfilter-Anlagen. Eine gewisse Schwierigkeit lag nun darin, die für das Arbeiten mit monochromatischer Strahlung optimale Energie zu ermitteln. Diese durfte nicht zu niedrig sein, um auch in den weniger wirksamen Spektralbereichen noch deutliche Reaktionen zu erhalten. Andererseits durfte sie jedoch auch nicht zu hoch sein, da nach den Ergebnissen der Weißlichtversuche beim Überschreiten des Optimums in den stark wirksamen Spektralbereichen eine zunehmende Hemmung der phototaktischen Reaktionen und damit eine völlige Entstellung des Aktionsspektrums zu befürchten war. Die Energiemenge sollte also möglichst so groß sein, daß sie bei der, allerdings nicht bekannten, Wellenlänge der größten Wirksamkeit dem Optimalwert entsprach.

Nun sind natürlich die in Lux gemessenen Werte der Weißlichtversuche nicht ohne weiteres mit den in erg/cm² · sec gemessenen Energiewerten vergleichbar. Andererseits war es aber wegen der zu erwartenden Breite des wirksamen Wellenbereiches auch nicht möglich, alle in Frage kommenden Wellenlängen mit verschiedenen Energiewerten zu prüfen, weil dies eine übermäßig große Zahl von Einzelversuchen erfordert hätte. Es wurde daher folgender Weg beschritten: Mit dem Luxmeter wurde im Bereich der größten spektralen Empfindlichkeit der benutzten Photozelle (500—600 mμ) der Energiewert ermittelt, der etwa einer Beleuchtungsstärke von 250 Lux entsprach. Er lag in der Größenordnung von 1000 erg/cm² · sec. Im äußersten Blau (IF 402) zeigte das Luxmeter dann noch 140, im äußersten wirksamen Rot (IF 640) 170 Lux an. Wie ein Vergleich der in Abb. 2 und 3 dargestellten Kurven zeigt, war damit

offenbar tatsächlich ein günstiger Energiewert gefunden. Jedenfalls liegen alle Reaktionswerte des Aktionsspektrums unter dem mit 200 Lux Weißlicht erhaltenen Maximalwert von 55—60%. Selbst in dem am stärksten wirksamen Bereich von 490—500 mμ wurden nur Reaktionswerte von 40—45% gemessen, so daß die eingestrahlte Energie eher noch etwas zu niedrig war als zu hoch.

Ein exaktes Wirkungsspektrum in dem von MOHR (1960) dargelegten Sinne erhält man auf diese Weise natürlich nicht, doch verbietet sich die genaue Ermittlung der zur Erreichung der gleichen Reaktionsstärke erforderlichen Quantenzahlen im Hinblick auf die lange Versuchsdauer sowie die starke Streuung der Einzelwerte von selbst. Wie noch zu zeigen sein wird, läßt jedoch auch das durch Messung der Reaktionsgröße erhaltene Aktionsspektrum durchaus Rückschlüsse auf die wirksamen Pigmente zu.

Der Energiewert von 1000 erg/cm² · sec ließ sich mit den benutzten Bestrahlungsanlagen ohne weiteres realisieren. Lediglich bei Verwendung der beiden UV-Filter 333.5 und 317.5 sank die Energie unter diesen Wert, und zwar betrug sie bei 333.5 nur noch 400, bei 317.5 etwa 200 erg/cm² · sec*. Dies ist einerseits auf die unterhalb 350 mμ stark absinkende Durchlässigkeit des Normalglases (MOHR u. SCHOSER 1960), andererseits auf die im gleichen Bereich abnehmende Emission der XBO-Lampe zurückzuführen. Die mit diesen Filtern ermittelten Werte lassen sich also mit denen der anderen Wellenlängen nicht ohne weiteres vergleichen.

Wie das in Abb. 3 wiedergegebene Aktionsspektrum zeigt, ist der gesamte Spektralbereich von 317—640 mμ photo*topo*taktisch wirksam, wobei allerdings zwischen den einzelnen Wellenbereichen größere Unterschiede bestehen. Bei Wellenlängen >640 mμ traten niemals Reaktionen ein. Erhöht man allerdings die Bestrahlungsenergie auf 10000 erg/cm² · sec, kann man auch bei 649 und 659 mμ noch schwache Reaktionen beobachten, während die vom Filter 670 mμ durchgelassene Strahlung in jedem Falle topotaktisch unwirksam ist. Die Wirksamkeit der von diesen beiden Filtern durchgelassenen Strahlung im hohen Energiebereich ist jedoch sicherlich auf das filterfremde Licht der benachbarten Wellenlängen zurückzuführen, das auch durch die Interferenzfilter nicht völlig abgeschnitten wird, und dessen Anteil mit zunehmender Energie immer mehr ins Gewicht fällt. Danach dürfte die Grenze der spektralen topotaktischen Empfindlichkeit zum Langwelligen hin zwischen 640 und 650 mμ liegen.

Die Grenze zum Kurzwelligen hin konnte nicht ermittelt werden, da der gesamte zugängliche UV-Bereich von 317—400 mμ topotaktisch wirksam ist, und zwar um so stärker, je größer die Wellenlänge. Das Maximum liegt an der Grenze des UV zum kurzwelligen Blau zwischen

* Alle Energiewerte wurden unter Einschaltung eines Petrischalenbodens in den Strahlengang gemessen, entsprechen also ungefähr der an der Stelle des Impfstriches tatsächlich herrschenden Energie.

395 und 405 mμ. Im übrigen streuen, wie die in Abb. 3 eingezeichneten mittleren Fehler zeigen, die im UV erhaltenen Reaktionswerte viel stärker als die der anderen Wellenbereiche, weshalb der Kurvenverlauf in diesem Teil des Aktionsspektrums nicht als gesichert angesehen werden kann. Wegen der oben erwähnten Energieungleichheit der Strahlung gilt dies besonders für den Abschnitt unterhalb 360 mμ, weshalb hier auf die Weiterführung der Kurve verzichtet wurde. Die eingezeichneten Reaktionswerte sind lediglich als Belege dafür anzusehen, daß auch dieser Abschnitt des UV topotaktisch wirksam ist. Ein exakter Vergleich der phototaktischen Wirksamkeit ist in diesem Bereich nur auf einem niedrigen Energieniveau möglich. Entsprechende Versuche werden zur Zeit durchgeführt.

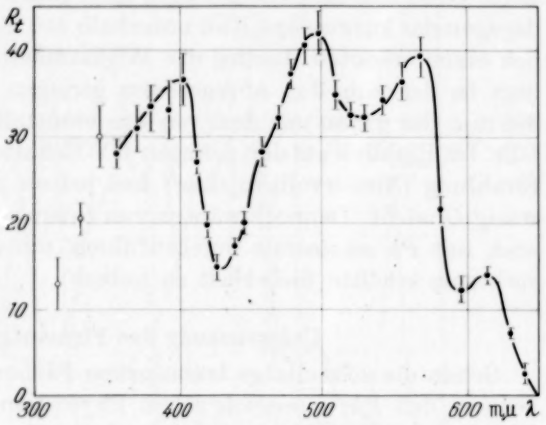


Abb. 3. Aktionsspektrum der Photo*topo*taxis von *Ph. autumnale*. Abszisse: Wellenlänge in mμ, Ordinate: Reaktionswert R_t in Prozent

Oberhalb 410 mμ fällt die spektrale Wirkungskurve steil ab, durchläuft bei 425—435 mμ ein Minimum und steigt dann zum zweiten Maximum zwischen 490 und 500 mμ an. Dieser Bereich ist der am stärksten wirksame des ganzen Spektrums überhaupt. Bei 520—530 mμ durchläuft die Kurve abermals ein, wenn auch nur flaches, Minimum, um dann zum dritten Hauptmaximum bei 560—570 mμ anzusteigen. Hierauf fällt sie steil ab, passiert zwischen 610 und 620 ein kleines Nebenmaximum und läuft schließlich zwischen 640 und 650 mμ aus. Da dieses Nebenmaximum aus unten noch zu erörternden Gründen von besonderem Interesse war, wurde es durch 25fache Wiederholung gesichert. In allen Versuchen waren die beiden Filter 596 und 613 mμ mindestens gleichwertig, doch erwies sich in der Mehrzahl der Fälle das Filter 613 als das wirksamere. Auch der Ersatz des letzteren durch ein anderes mit dem Filterschwerpunkt 615 mμ änderte daran nichts. Die in Abb. 3 für diese beiden Reaktionswerte eingezeichneten mittleren Fehler, die unabhängig voneinander berechnet wurden, sind also eigentlich zu groß und können nicht als Kriterium für die Signifikanz der relativ geringen, aber fast in allen Parallelversuchen nachgewiesenen Wirkungsdifferenz der beiden Wellenlängen gelten. Das Nebenmaximum erscheint deshalb gesichert.

Vergleichen wir das Aktionsspektrum mit den Ergebnissen der Drewsschen Interferenzfilter-Versuche an *Phormidium uncinatum*, einer ebenfalls Phycocyan und Phycoerythrin führenden Art, so ist innerhalb gewisser Grenzen eine recht gute Übereinstimmung festzustellen. DREWS gibt die Grenze der topotaktischen Empfindlichkeit zum Langwelligen hin zwischen 615 und 631 mμ an. Da er jedoch in einem sehr niedrigen Energiebereich arbeitete, dürfte sie sich wohl bei Verwendung höherer Intensitäten noch etwas zum Langwelligen hin verschieben und dann ziemlich genau mit der an *Ph. autumnale* ermittelten übereinstimmen. Gelb, Grün und langwelliges Blau fand DREWS stark wirksam, schwach dagegen das kurzwellige Blau unterhalb 440 mμ. Im UV fand er schließlich einen erneuten Anstieg der Wirksamkeit. Die größte Abweichung liegt in der von ihm angegebenen geringen Wirksamkeit des Filters 398 mμ, das genau mit dem von uns ermittelten Maximum zusammenfällt. Im Hinblick auf den geringen UV-Gehalt der von DREWS benutzten Strahlung (Niedervoltprojektor) hat jedoch gerade dieser Befund nur wenig Gewicht. Dennoch wäre es von Interesse, entsprechende Versuche auch mit *Ph. uncinatum* durchzuführen, um dem gefundenen Aktionsspektrum erhöhte Sicherheit zu geben.

Untersuchung des Pigmentgehaltes

Schon die schmutzige braun-grüne Färbung der Kulturen läßt erkennen, daß *Ph. autumnale* neben Phycocyan auch Phycoerythrin enthält. Dies wurde durch die Extraktion des Reinkulturmaterials mit wäßriger Toluollösung nach LINSKENS (1959) bestätigt. Allerdings schlugen alle Versuche, die beiden Pigmente nach der vom gleichen Autor angegebenen Methode papierelektrophoretisch zu trennen, fehl, da sich die Phycobiline unter den angegebenen Bedingungen bei 20° rasch zersetzen, während sie bei 2—4° kaum wandern und sich somit auch nicht trennen. Es wurde daher von weiteren Versuchen zur Trennung und Reinigung der beiden Pigmente Abstand genommen und lediglich die spektrale Absorptionskurve des Farbstoffgemisches aufgenommen, die in Abb. 4 wiedergegeben ist[1]. Das Hauptmaximum des Phycoerythrins liegt bei 563 mμ, während das kleinere Maximum bei 540 mμ nur schwach angedeutet ist. Dies ist nach Ó HEOCHA (1960) wahrscheinlich auf enzymatische Veränderungen während der 24 Std dauernden Extraktion zurückzuführen. Das Maximum des Phycocyans liegt bei 615 mμ. Ein Vergleich der Extinktionswerte beider Maxima zeigt, daß die Menge des Phycocyans gegenüber der des Phycoerythrins gering ist. Der Kurvenverlauf im UV mit einem Absorptionsmaximum bei 335 mμ ist unsicher, da bei dem gewählten Extraktionsverfahren nicht ausgeschlossen werden

[1] Alle in Abb. 4 wiedergegebenen Absorptionskurven wurden mit dem Spektralphotometer PMQ II der Fa. Carl Zeiss aufgenommen.

kann, daß auch andere Proteide extrahiert wurden, die hier die Phycobilinkurve möglicherweise überdecken. Außerdem scheint die Lage der UV-Maxima des Phycocyans und Phycoerythrins, die nach den Angaben Ó hEocHas (1960) in diesem Bereich zwischen 306 und 375 mμ liegen, je nach Extraktionsverfahren verschieden zu sein. Genaueres wird sich hierüber erst sagen lassen, wenn die Trennung und Reinigung der beiden Komponenten gelungen ist.

Die Extraktion und Trennung der alkohollöslichen Pigmente erfolgte nach der von Hager (1957) angegebenen Methode, d.h. Extraktion mit

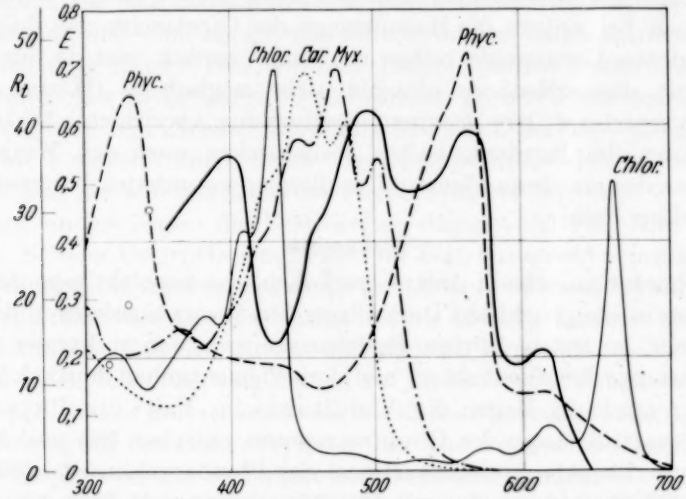


Abb. 4. Spektrale Absorptionskurven einiger Pigmente von *Ph. autumnale*. Abszisse: Wellenlänge in mμ, Ordinate: Extinktion. – – – – Phycocyan + Phycoerythrin, ——— Chlorophyll, ····· β-Carotin, —·—·— Myxoxanthophyll. Zum Vergleich ist das Aktionsspektrum aus Abb. 3 noch einmal eingezeichnet (dick ausgezogene Linie)

einem Aceton-Benzin-Gemisch, quantitative Überführung in die Benzinphase und chromatographische Trennung an der Stärkesäule. Das Chlorophyll a, das in verhältnismäßig großer Menge vorhanden ist, läßt sich auf diese Weise leicht von den Carotinoiden trennen. Seine spektrale Absorptionskurve wurde in ätherischer Lösung aufgenommen (Abb. 4).

Schon bei der Überführung der Farbstoffe aus dem Extraktionsgemisch in die Benzinphase durch Auswaschen des Acetons fiel eine kristalline orangegelbe Substanz aus, die sich beim Ablassen der Lösungen an der Wandung des Scheidetrichters absetzte. Sie löste sich in Methanol gelb, in Aceton dunkelgelb, in Chloroform orangefarben und in Pyridin rot-orange. Die spektrale Absorptionskurve dieses hexanunlöslichen Carotinoids hat 3 Maxima, deren Lage in verschiedenen Lösungsmitteln (Äthanol, Chloroform und Pyridin) ermittelt wurde (in Abb. 4 ist die Methanolkurve gekennzeichnet). Wie ein Vergleich mit den von Karrer

u. JUCKER (1948) angegebenen Daten zeigt, scheint es sich um Myxoxanthophyll zu handeln, obwohl einige der Absorptionsmaxima um 1 bis 2 mμ differieren. Dies ist wahrscheinlich auf geringe Mengen von Verunreinigungen zurückzuführen, die trotz des mehrmaligen Waschens mit Hexan im Präparat zurückgeblieben sind. Auch andere Merkmale, wie z.B. die Blaufärbung in konzentrierter Schwefelsäure, stimmen mit den Angaben von KARRER u. JUCKER überein. Übrigens ist das Myxoxanthophyll bei den Cyanophyceen bereits mehrfach nachgewiesen (GOODWIN 1960).

Obwohl das Myxoxanthophyll in relativ großer Menge vorkommt, stellt doch bei weitem die Hauptmenge der Carotinoide das β-Carotin. Alle anderen Carotinoide treten an Menge zurück, und da ihre Trennung mit dieser Methode ohnehin nicht möglich ist (HAGER 1957), wurde vorerst auf ihre genauere Bestimmung verzichtet. Die exakte Ermittlung des Pigmentgehaltes, insbesondere auch des Mengenverhältnisses der einzelnen Pigmente, muß einer gesonderten Untersuchung vorbehalten bleiben.

Diskussion

Zeichnet man, wie in Abb. 4 geschehen, das topotaktische Aktionsspektrum in die graphische Darstellung der Absorptionskurven der Pigmente ein, so treten gewisse Beziehungen zwischen spektraler photo-*topo*taktischer Empfindlichkeit und dem Pigmentgehalt deutlich hervor.

Ganz eindeutig liegen die Verhältnisse im Falle der Phycobiline. Hier stimmt die Lage des Hauptmaximums zwischen 560 und 570 mμ genau mit dem Absorptionsmaximum des Phycoerythrins bei 563 überein, und das nur in geringerer Menge vorkommende Phycocyan wird durch das Nebenmaximum bei 613 mμ repräsentiert. Allerdings entspricht das Mengenverhältnis der extrahierten Pigmente nicht genau dem Wirkungsverhältnis der von den beiden Filtern durchgelassenen Strahlung, doch findet dies seine Erklärung sicherlich in dem jeweils stark schwankenden Mengenverhältnis beider Pigmente bei den einzelnen Extraktionen, die mit verschieden altem Material durchgeführt wurden. Nichtsdestoweniger steht die Mitwirkung der beiden Phycobiline an der phototaktischen Reaktion außer Zweifel.

Das zweite Hauptmaximum bei 490—500 mμ dürfte seiner Lage nach der maximalen Gesamtabsorption der Carotinoide entsprechen. Zwar liegen, wie Abb. 4 zeigt, die Hauptabsorptionsmaxima der mengenmäßig wichtigsten Vertreter, des β-Carotins und des Myxoxanthophylls, mehr im kurzwelligen Bereich bei etwa 450 und 470 mμ, doch differiert ja gerade bei den Carotinoiden die Lage der Absorptionsmaxima in verschiedenen Lösungsmitteln außerordentlich stark und ist der Absorption der an die Zellbestandteile gebundenen Pigmente in vivo nicht ohne weiteres vergleichbar. So würden sich bei Verwendung von Pyridin als Lösungsmittel die Absorptionskurven um 20—25 mμ zum Langwelligen hin ver-

schieben und mit dem Maximum des Aktionsspektrums fast zur Deckung kommen. Auch der Literatur entnommene Angaben über die spektrale Absorption einiger Cyanophyceen in vivo (RABINOWITSCH 1951, 1956) bestätigen die Lage des Carotinoidgipfels bei 480—500 mμ. Entsprechende Messungen für *Ph. autumnale* stehen noch aus. Schließlich sei noch darauf hingewiesen, daß auch die Aktionsspektren anderer Organismen, bei denen ein Zusammenhang der phototaktischen Reaktion mit dem Carotinoidgehalt konstatiert wurde, einen Gipfel ähnlicher Lage zeigen. So geben z. B. BÜNNING u. SCHNEIDERHÖHN (1956) die Lage des Hauptmaximums für eine stigmaführende, grüne Form von *Euglena gracilis* ebenfalls mit 490—500 mμ an, und andere Autoren haben ähnliche Werte gefunden (vgl. HAUPT 1959, BENDIX 1960b). Somit besteht also auch hinsichtlich der Beteiligung der Carotinoide an der Photo*topo*taxis der Cyanophyceen kein Zweifel. Das flache Minimum bei 520—530 mμ wird, wie Abb. 4 deutlich zeigt, durch den absteigenden Schenkel der Carotinoide und den aufsteigenden des Phycoerythrins begrenzt.

Ganz anders liegen die Verhältnisse dagegen im Falle des Chlorophylls. Seinem Absorptionsmaximum im Blau entspricht ziemlich genau das Minimum des Aktionsspektrums bei 430 mμ, während Strahlung von der Wellenlänge des zweiten Maximums im Rot topotaktisch überhaupt unwirksam ist. Nehmen wir an, daß auch die immerhin noch deutliche Wirkung der Strahlung von 430 mμ auf die Carotinoide zurückzuführen ist, die ja in diesem Bereich noch eine merkliche Absorption zeigen, so kann eine Beteiligung des Chlorophylls an der photo*topo*taktischen Reaktion der Cyanophyceen mit Sicherheit ausgeschlossen werden.

Natürlich sagt die festgestellte Beziehung zwischen photo*topo*taktischer Reaktion und dem Gehalt an Carotinoiden und Phycobilinen noch nichts darüber aus, welcher Art diese Zusammenhänge sind. Daß die beiden Pigmentgruppen nicht selbst als Photoreceptoren fungieren, scheint nach dem gegenwärtigen Stande unseres Wissens über die Lichtreizbewegungen der Pflanzen ziemlich sicher. Während wir aber diese Zusamenhänge trotz Annahme eines anderen Photoreceptors im Falle der Flagellaten durch die Theorie der periodischen Beschattung einigermaßen befriedigend erklären können, haben wir hiervon im Falle der Cyanophyceen noch gar keine konkrete Vorstellung. Es hat aber auch wenig Sinn, eine solche zu entwickeln, bevor wir nicht einen tieferen Einblick in das Reiz- und besonders das Bewegungsverhalten dieser Gruppe haben.

In diesem Zusammenhang müssen wir noch kurz auf das Reaktionsmaximum im UV eingehen. Da keines der in Frage kommenden Pigmente in dem maximal wirksamen Bereich eine nennenswerte Absorption zeigt, haben wir es hier entweder mit dem Absorptionsmaximum einer unserem Auge farblos erscheinenden, aber doch in der gleichen Weise wie Carotinoide oder Phycobiline wirkenden Substanz, oder aber mit dem

Photoreceptionssystem selbst zu tun. Die letztere Erklärung erscheint gar nicht so abwegig, wenn man daraufhin einmal die Aktionsspektren farbloser Organismen zum Vergleich heranzieht. So fand z.B. GÖSSEL (1957) bei Versuchen mit einer farblosen, stigmenfreien Form von *Euglena gracilis* var. *bacillaris* die stärkste phototaktische Empfindlichkeit im Bereich von 400—410 mμ, und LUNTZ (1931) gibt das Empfindlichkeitsmaximum für eine farblose Chilomonas-Art mit 366 mμ an. Auch für die starke topotaktische Wirkung des UV und des Violett gibt es also Parallelen, doch wäre es natürlich verfrüht, hieraus etwa auf eine Gleichheit des Photoreceptors schließen zu wollen. Bevor wir hierüber definitive Aussagen machen können, benötigen wir noch weitere Aktionsspektren, insbesondere auch der phycoerythrin-freien, blaugrünen Formen, die zu ermitteln unsere nächste Aufgabe sein wird.

Herrn Prof. Dr. E. BÜNNING danke ich für die Unterstützung dieser Arbeit. Die Deutsche Forschungsgemeinschaft gewährte mir eine erhebliche Sachbeihilfe, wofür ihr auch an dieser Stelle gedankt sei. Herrn Dr. G. SCHOSER gebührt mein Dank für die Beratung in allen technischen Fragen.

Summary

A method for quantitative evaluation of phototactic experiments is described which is especially suitable for Cyanophyceae of the *Oscillatoria-Phormidium* type. The zero threshold for topotaxis of *Phormidium autumnale* is at 5 lux, the reaction optimum at 200 lux, and the maximum, i.e. region of indifference, is reached at 10000 lux. Negative topotaxis was not observed, since the movement of *Ph. autumnale* ceases above 10000 lux as a result of negative photokinesis.

With the aid of an interference filter monochromator system the action spectrum for topotaxis was determined for the range between 317 and 800 mμ at a constant energy of 1000 erg/cm^2 · sec. These results were correlated with studies on the pigment content.

Three main maxima were found at 395—405, 490—500 and 560 to 570 mμ. The second maximum corresponds to the principle absorption region of the carotenoids and the last to that of the phycoerythrin. In agreement with the low phycocyanin content a small subsidiary maximum at 615 mμ was found. Thus visible irradiation is photo*topo*tactically active in proportion to the carotenoid and phycobilin absorption, whereas apparently no connection exists with chlorophyll a. Possible interpretations of the maximum at 395—405 mμ are discussed.

Literatur

BENDIX, S. W.: Phototaxis. Bot. Rev. **26**, 145—208 (1960a).

— Pigments in Phototaxis. Comp. Biochem. of Photoreact. Syst., p. 107—127 New York: Academic Press 1960b.

BÜNNING, E., u. G. SCHNEIDERHÖHN: Über das Aktionsspektrum der phototaktischen Reaktion von *Euglena*. Arch. Mikrobiol. **24**, 80—90 (1956).

Demeter, O.: Über Modifikationen bei Cyanophyceen. Arch. Mikrobiol. **24**, 105—133 (1956).

Drews, G.: Zur Kultur der Cyanophyceen. Naturwissenschaften **42**, 397 (1955).

— Die phototaktischen Reaktionen einiger Cyanophyceen. Ber. dtsch. bot. Ges. **70**, 259—262 (1957).

— Beiträge zur Kenntnis der phototaktischen Reaktionen der Cyanophyceen. Arch. Protistenk. **104**, 389—430 (1959).

Geitler, L.: Cyanophyceae. In Rabenhorst, Kryptogamenflora, Bd. 14, Leipzig 1932.

Gössel, L.: Über das Aktionsspektrum der Phototaxis chlorophyllfreier Euglenen und über die Absorption des Augenflecks. Arch. Mikrobiol. **27**, 288—305 (1957).

Goodwin, T. W.: Algal Carotenoids. Comp. Biochem. of Photoreact. Syst., p. 1—10. New York: Academic Press 1960.

Hager, A.: Zur Chromatographie der lipoidlöslichen Blattfarbstoffe. Planta (Berl.) **48**, 592—621 (1957).

Haupt, W.: Die Phototaxis der Algen. In Handbuch der Pflanzenphysiologie., Bd. 17/1. S. 318—370. Berlin-Göttingen-Heidelberg: Springer 1959.

— Die Chloroplastendrehung bei *Mougeotia*, II. Mitt. Die Induktion der Schwachlichtbewegung durch linear polarisiertes Licht. Planta (Berl.) **55**, 465—479 (1960).

Karrer, P., u. E. Jucker: Carotinoide. Basel: Birkhäuser 1948.

Linskens, H. F.: Papierchromatographie in der Botanik, 2. Aufl. Berlin-Göttingen-Heidelberg: Springer 1959.

Luntz, A.: Untersuchungen über die Phototaxis. I. Die absoluten Schwellenwerte und die relative Wirksamkeit von Spektralfarben bei grünen und farblosen Einzelligen. Z. vergl. Physiol. **14**, 68—92 (1931).

Mainx, F., u. H. Wolf: Reaktionsintensität und Stimmungsänderung in ihrer Bedeutung für eine Theorie der Phototaxis. Arch. Protistenk. **93**, 105—120 (1940).

Mohr, H.: Photomorphogenetische Reaktionssysteme in Pflanzen. 2. Teil. Der Einfluß kurzwelligen Lichts auf Wachstum und Entwicklung. Ergebn. Biol. **23**, 47—93 (1960).

—, u. G. Schoser: Eine Interferenzfilter-Monochromatoranlage für photobiologische Zwecke. Planta (Berl.) **53**, 1—17 (1959).

— — Eine mit Xenonbögen ausgerüstete Interferenzfilter-Monochromatoranlage für kurzwellige sichtbare und langwellige ultraviolette Strahlung. Planta (Berl.) **55**, 143—152 (1960).

Nienburg, W.: Die Perzeption des Lichtreizes bei den Oscillarien und ihre Reaktion auf Intensitätsschwankungen. Z. Bot. **8**, 161—193 (1916).

Nultsch, W.: Studien über die Phototaxis der Diatomeen. Arch. Protistenk. **101**, 1—68 (1956).

Ó hEocha, C.: Chemical studies of phycoerythrins and phycocyanins. Comp. Biochem. of Photoreact. Syst., p. 181—203. New York: Academic Press 1960.

Pohl, R.: Tagesrhythmus im phototaktischen Verhalten der *Euglena gracilis*. Z. Naturforsch. **3b**, 367—374 (1948).

Rabinowitsch, E.: I. Photosynthesis and related processes, Bd. II/1 1951, Bd. II/2 1956. New York: Intersc. Publ.

Starr, R. C.: The culture collection of algae at Indiana University. Amer. J. Bot. **47**, 67—86 (1960).

Dozent Dr. W. Nultsch,
(14b) Tübingen, Botanisches Institut der Universität
Wilhelmstr. 5

Planta 56, 648—665 (1961)

Aus dem Botanischen Institut der Universität Marburg

LICHT- UND ELEKTRONENMIKROSKOPISCHE UNTERSUCHUNGEN AN DESMIDIACEEN

V. Mitteilung

ÜBER DIE VARIABILITÄT DER CHLOROPLASTENSTRUKTUR BEI *MICRASTERIAS ROTATA*

Von

HORST DRAWERT und MARIANNE MIX

Mit 24 Textabbildungen

(Eingegangen am 20. Februar 1961)

1. Einleitung

Die in der Literatur zu findenden Angaben über die licht- und elektronenmikroskopische Struktur der Conjugate der n-Chloroplasten sind recht widersprechend. Einerseits wird ihnen eine Granastruktur abgesprochen, andererseits fehlt es aber nicht an Beobachtungen, besonders im lichtmikroskopischen Bereich, die auf eine Granastruktur hinweisen. Nach der Auffassung einiger Autoren sollen sich ganz allgemein Pyrenoide und Grana in einem Chloroplasten ausschließen (LEYON 1954, 1956; KAJA 1954).

Der erste, der granaartige Strukturen bei Conjugaten erwähnt, ist SCHMITZ (1883 Sep. S. 29): „So sah ich z. B. bei *Spirogyra majuscula* ... die lebenden Chromatophoren in ihrer ganzen Masse sehr deutlich derbpunktiert in der Weise, daß zahlreiche dunklere Punkte die heller grüne Chromatophorensubstanz durchsetzten." Nach der Wiederentdeckung der Grana in den Chloroplasten von Moosen und höheren Pflanzen durch HEITZ (1936) beschreibt GEITLER (1937) auch für einige Algen granahaltige Plastiden und erwähnt für *Closterium*, daß hier die Grana in ihrer Größe bereits an der Grenze des Auflösungsvermögens liegen, „und tatsächlich sind sie nicht an *allen* Zellen wahrnehmbar" (S. 467). HYGEN (1937) belegt dann photographisch die Granastruktur für die Chromatophoren von *Micrasterias denticulata*. Nach DANGEARD (1951) können bei *Spirogyra-*, *Mougeotia-*, *Zygnema-* und *Closterium*-Arten sowohl in vivo wie in vitro Grana nachgewiesen werden. Aber auch er gibt eine *Closterium*-Art als Ausnahme an. In elektronenmikroskopischen Aufnahmen lassen nach STEINMANN (1952) die Chromatophoren einer einbändrigen *Spirogyra* und einer *Mougeotia*-Art zwar eine lamelläre Struktur, aber keine Grana erkennen. Dasselbe stellt LEYON (1954) ebenfalls für *Spirogyra-*, *Mougeotia-* und *Closterium*-Arten fest. Nach fluorescenzmikroskopischen Untersuchungen im Auflicht kann METZNER (1955) erneut eine Granastruktur für *Spirogyra*, *Mougeotia* und *Cosmarium* bestätigen. Allerdings sind die Chloroplastenbänder bei *Spirogyra* gelegentlich ganz homogen. BUTTERFASS (1957) bildet für *Spirogyra* licht- und fluorescenzmikroskopisch Grana ab, aber auch er erwähnt, daß bei einbändrigen Arten die Grana so klein sein können, daß sie nicht in allen Fällen mikroskopisch sichtbar sind. Ferner gelingt ihm der elektronenmikrosko-

pische Nachweis der Grana bei *Spirogyra*[1]. Für *Micrasterias papillifera* legen CHARDARD und ROUILLER (1957) elektronenmikroskopische Aufnahmen von granahaltigen Chloroplasten vor. Nach denselben Autoren besitzt aber *Cosmarium Lundelii* nur rudimentäre Grana, und bei *Closterium acerosum* soll das Vorkommen von Grana zweifelhaft sein.

Aus der Übersicht geht hervor, daß sich nicht nur die Angaben verschiedener Untersucher widersprechen, sondern daß ein- und demselben Beobachter unter Umständen sowohl granaführende als auch granafreie Objekte vorlagen. Aus einer Reihe von elektronenmikroskopischen Aufnahmen verschiedener Desmidiaceen, die Frau Dr. I. METZNER-KÜSTER angefertigt hat, geht der gleiche widersprechende Tatbestand hervor. Neben allem Anschein nach granafreien Chromatophoren trifft man immer wieder auf solche, die eine ausgesprochene Granastruktur besitzen (vgl. Abb. 876 in SCHUSSNIG 1960, S. 1139). Da es sich dabei nicht nur um Artefaktbildungen handeln kann, sind wir der Frage der Variabilität der Plastidenstruktur bei *Micrasterias rotata* nachgegangen.

Die vorliegende Arbeit befaßt sich nur mit der Änderung der Chloroplastenstruktur im normalen Alterungsprozeß der Zellen unter Ausschluß der Pyrenoide. Über den Einfluß von Antibiotica auf die Plastidenstruktur und über die Pyrenoide soll in anschließenden Mitteilungen berichtet werden. Die elektronenmikroskopischen Aufnahmen wurden mit dem Elmiskop II gemacht.

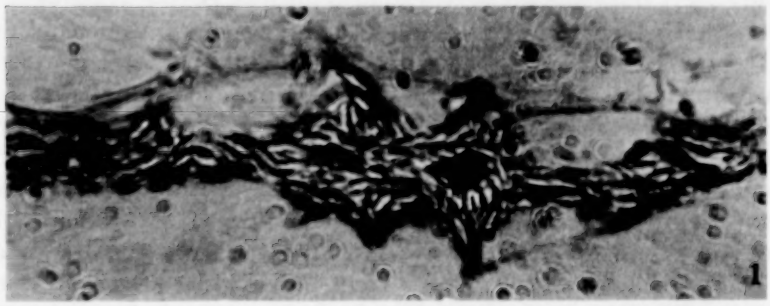
2. Die Gestalt des Chloroplasten und sein Verhalten bei der Zellteilung

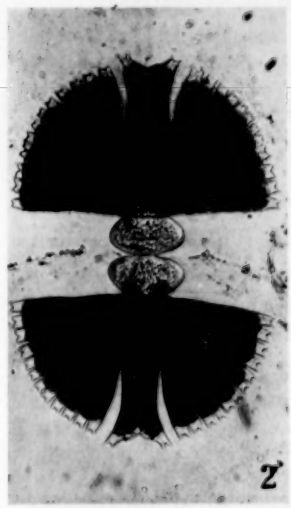
Bei der Behandlung des Fragenkomplexes darf nicht übersehen werden, daß die Desmidiaceen eine besondere Gestaltung der Chromatophoren zeigen und zum großen Teil auch eine ganz abweichende Form der Plastidenteilung aufweisen. Zum besseren Verständnis der Strukturenvariabilität und auch der in dieser und den folgenden Mitteilungen gebrachten elektronenmikroskopischen Aufnahmen soll zunächst auf diese beiden Punkte eingegangen werden.

Eine kurze Beschreibung des Chloroplasten von *Micrasterias rotata* findet sich bei CARTER (1919). Der Chloroplast ist plattenförmig gebaut, mit gezacktem Rand und mit Leisten versehen. Am auffälligsten sind die beiden Längsleisten in der Mitte der Zelle, die sich in die Polarlappen erstrecken (vgl. Abb. 2). Durch die Leistenbildung wird die Oberfläche unregelmäßig. Die Platte zeigt gewissermaßen Verwerfungen. Sehr klar geht das aus Querschnitten an fixiertem Material hervor, wie Abb. 1 belegt. Die Anordnung der Stärkekörner in Abb. 1 weist darauf hin, wie schwierig es ist, bei der Herstellung von Dünnschnitten eine bestimmte Schnittrichtung genau festzulegen.

[1] Die von BUTTERFASS als „Karyoide" bezeichneten Gebilde sind unserer Meinung nach Golgi-Apparate. Man vergleiche in diesem Zusammenhang die Fig. 2—5 von *Spirogyra* bei BUTTERFASS (1957, S. 373) mit den Abb. 39—41 von *Micrasterias* bei DRAWERT u. MIX (1961, S. 256/57).

Ein — allerdings in einigen Punkten korrekturbedürftiges — Schema der Zellteilung von *M. rotata* bringt KRIEGER (1933/37, S. 54, Fig. 19). Nach erfolgter Kernteilung (vgl. WARIS 1950) und Bildung einer Querwand im Isthmus wölben sich die beiden neuen Halbzellen zunächst





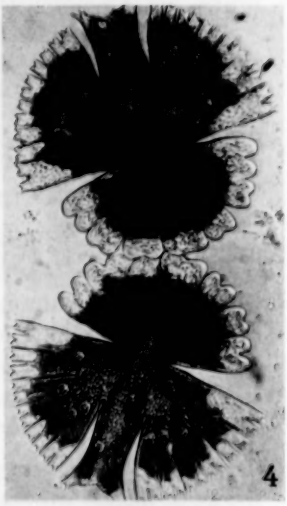


Abb. 1. *Micrasterias rotata*. Querschnitt durch einen fixierten Chloroplasten nach Färbung mit Eisen-Hämatoxylin. Paraffin-Präparat. Der Chloroplast enthält viele Stärkekörner. Zwei Pyrenoide sind angeschnitten. Vergr.: 340, auf 1020 nachvergr.

Abb. 2—4. *Micrasterias rotata*. Verschiedene Stadien der Zellteilung ein- und desselben Individuums. Man beachte die Abnahme der Chloroplastendichte in den alten Zellhälften. Vergr.: 85, auf 155 nachvergr.

blasenartig vor und schieben die alten auseinander (Abb. 2). Die noch undifferenzierten, jungen Zellhälften enthalten nur Plasma in lebhafter Strömung. Die beiden Tochterkerne befinden sich in den neuen Isthmen. Mit WARIS (1950, S. 6) müssen auch wir auf Grund unserer Beobachtungen die Behauptung von CZURDA (1937, S. 78) zurückweisen, daß der Kern erst nach der Einwanderung des Chloroplasten in den Isthmus eingelagert wird. Dieser Einwand von CZURDA gegen das Schema von

KRIEGER besteht also nicht zu Recht (man vergleiche auch die Angaben von CARTER 1920, S. 312). Die Einwanderung des Chloroplasten beginnt mit einem Vorstülpen der Chloroplastenteile aus den seitlichen Sektoren (Abb. 2). Sie erfolgt also nicht in breiter Front, wie es der Fig. 19 F in dem Schema von KRIEGER (1933/37, S. 54) zu entnehmen wäre. Die Wand der neuen Zellhälften zeigt auch noch keine Eindellungen, die in dem Schema von KRIEGER bereits für das noch frühere Stadium in Fig. 19 E angedeutet sind. Nach den Seitenlappen stülpen sich die beiden Leisten des Polarlappens in die neue Zellhälfte vor, und dann erfolgt erst das Vordringen in breiterer Front (Abb. 3). Gleichzeitig

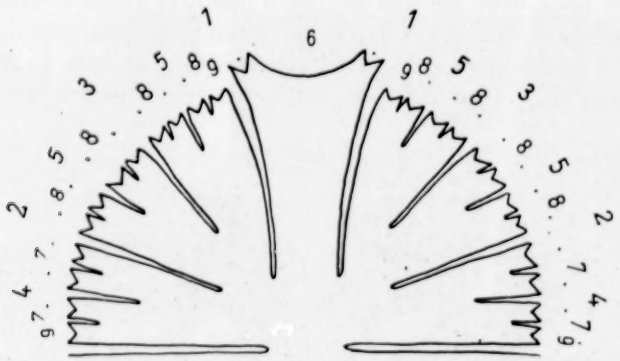


Abb. 5. *Micrasterias rotata*. Schema der Differenzierung in einer Halbzelle. Die Zahlen von 1—9 geben die Reihenfolge in der Anlage der einzelnen Buchten an

beginnt in der Wand die Anlage der Polar- und Seitenlappen sichtbar zu werden (Abb. 3), deren Ausdifferenzierung in der in Abb. 5 angeführten Reihe erfolgt. Der Zellkern wird von dem einwandernden Chloroplasten überlagert.

Das Vordringen des Chloroplasten verläuft so schnell, daß es sich hierbei nicht um einen Wachstumsvorgang handeln kann, sondern der neue Plastidenteil muß schon in der alten Zellhälfte vorgebildet worden sein. Dies geht auch aus der Verringerung der Dichte des Chloroplasten in der alten Zellhälfte hervor, wie sie ein Vergleich der Abb. 2—4 erkennen läßt. Mit der Dichteabnahme hängt das immer klarere Hervortreten der Pyrenoide in der alten Zellhälfte zusammen. Bei dem ganzen Prozeß zeigt der alte Chloroplastenteil entsprechend den Angaben von CARTER (1920) eine Kontraktion, d.h. der Abstand zur Zellwand vergrößert sich (Abb. 2—4).

Über den Mechanismus der Einwanderung konnten wir keine klaren Angaben finden, und auch unsere Untersuchungen haben noch zu keiner einwandfreien Vorstellung geführt, so daß die folgende kurze Schilderung nur als Arbeitshypothese aufzufassen ist.

Die Ausbildung der Leisten ist von Individuum zu Individuum sehr unterschiedlich, und bereits CARTER (1919) vermutet, daß das mit dem physiologischen Zustand der Zellen zusammenhängt. Durch Aufbau neuer Plastidensubstanz wird der Chloroplast sehr dicht, und die Leisten werden stark aufgeworfen, so daß das ganze an Übersichtlichkeit verliert. Bei der Einwanderung in die junge Zellhälfte scheint sich der neue Chloroplast etwa nach dem Schema in Abb. 6 aus dem alten herauszustülpen. Dabei verschwinden die Leisten im alten Teil weitgehend, und der neue Chloroplastenteil zeigt jetzt eine größere Dichte als der in der alten Zellhälfte verbliebene (Abb. 4). Mit der Ausdifferenzierung der

Abb. 6. *Micrasterias rotata*. Schema für das Ausstülpen der neuen Chloroplastenhälfte aus der alten

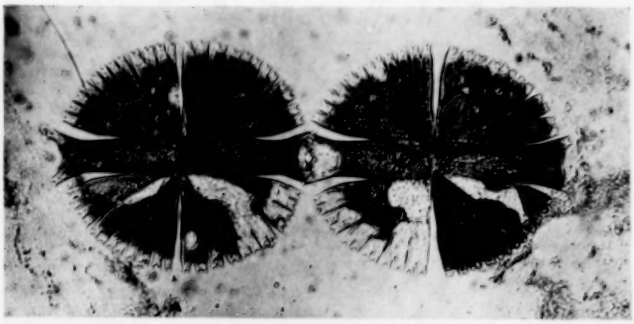
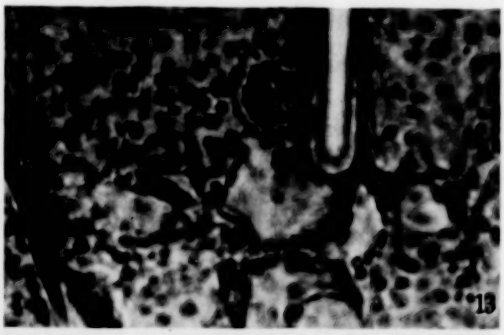


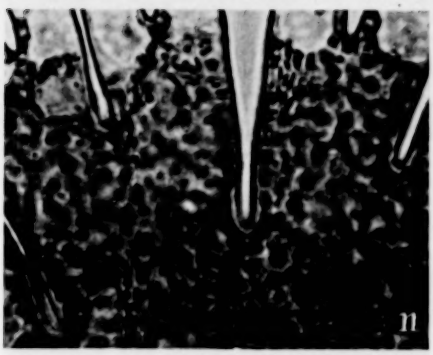
Abb. 7. *Micrasterias rotata*. Zwei Schwesterzellen eines chloroplastendefekten Individuums mit einer gewissen Symmetrie in der Ausbildung des Defektes. Verg.: 55, auf 140 nachvergr.

jungen Halbzelle erfolgt die endgültige Entfaltung des neuen Chloroplasten, der aber noch mit dem alten zusammenhängt. Beide Chloroplastenhälften zeigen jetzt die gleiche Dichte (vgl. auch CARTER 1920). Nach einiger Zeit trennen sich die beiden Plastidenhälften im Isthmus, und die Leisten werden wieder aufgeworfen.

Die von FOTT (1959, S. 310) ausgesprochene Verallgemeinerung: „Die Zellteilung beginnt mit der Kernteilung und mit der Spaltung des Chloroplasten" trifft für viele Desmidiaceen nicht zu, vor allem nicht für die beiden von FOTT angeführten Beispiele *Micrasterias* und *Cosmarium*. Hier erfolgt die Spaltung des Chloroplasten erst am Ende der Zellteilung. Ferner ist das von FOTT gebrachte Bild von *Micrasterias rotata* in Fig. 192 (S. 309) kein Beispiel für das „Heranwachsen einer geteilten Zelle", sondern stellt ein Individuum mit einer unvollständig ausdifferenzierten Zellhälfte dar.

Für die hier geschilderte Vorstellung der Chloroplastenvermehrung spricht auch eine gewisse Symmetrie in den Schwesterzellen chloroplastendefekter Objekte (Abb. 7).





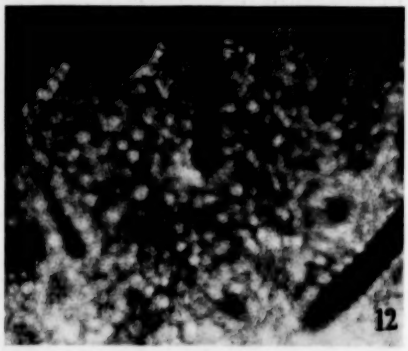


Abb. 8. *Micrasterias rotata*. Chloroplast in Aufsicht ohne Granastruktur. Vergr.: 540, auf 1080 nachvergr.

Abb. 9. *Micrasterias rotata*. Chloroplast in Aufsicht mit feiner Granastruktur. Vergr.: 540, auf 1080 nachvergr. (Bereits veröffentlicht in SCHUSSNIG 1960, Abb. 876)

Abb. 10. Wie Abb. 9, aber Aufnahme im Fluorescenzmikroskop. Vergr.: 320, auf 800 nachvergr.

Abb. 11. *Micrasterias rotata*. Chloroplast in Aufsicht mit grober Granastruktur. Grana teilweise in Profilstellung. Vergr.: 540, auf 1080 nachvergr.

Abb. 12. Wie Abb. 11, aber im Fluorescenzmikroskop aufgenommen. Vergr.: 320, auf 800 nachvergr.

Abb. 13. *Micrasterias rotata*. Chloroplast in Aufsicht mit grober Granastruktur. Grana in Aufsicht und in den Leisten in Profilstellung. Vergr.: 540, auf 1620 nachvergr.

3. Die Variabilität der Granastruktur im lichtmikroskopischen Bereich

Je nach dem physiologischen Zustand der Zellen erscheinen die Chloroplasten von *M. rotata* im normalen Lichtmikroskop homogen grün (Abb. 8) bzw. im Fluorescenzmikroskop rot oder jeweils mit einer feineren (Abb. 9 und 10) bis gröberen (Abb. 11 und 12) Granastruktur. Die Fluorescenzbilder belegen, daß es sich bei der Granulierung wirklich um die chlorophyllführenden Grana handeln muß. Die Scheibchenstruktur geht aus den Abb. 11 und 12 hervor, die eine eigenartige Aufreihung der Grana an der Peripherie des Chloroplasten erkennen lassen. Nach unseren bisherigen Beobachtungen scheint mit einer Verschlechterung der Lebensbedingungen eine Vergröberung und Desorientierung der Granastruktur einherzugehen.

Wie sich die Leistenbildung auf die Anordnung der Grana auswirkt, ist Abb. 13 zu entnehmen. Die Aufnahme bringt nebeneinander Grana in Aufsicht, im Profil und in allen Übergängen zwischen diesen beiden Extremansichten. Genauso wird ein Querschnitt nur im Idealfall die Grana wirklich quer treffen.

4. Die Variabilität der Granastruktur im elektronenmikroskopischen Bereich

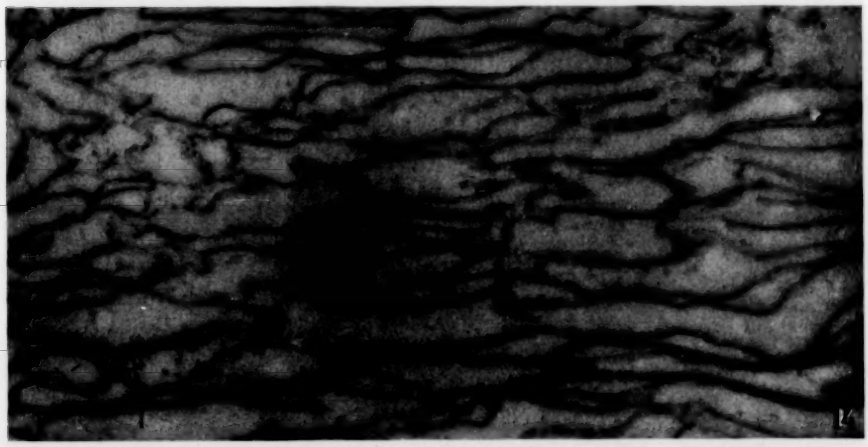
Nach den bisherigen Beobachtungen tritt eine unterschiedliche Beeinflussung der Struktur durch verschiedene Fixierungs- und Einbettungsmittel auf. Aus diesem Grunde werden die erhaltenen Ergebnisse getrennt aufgeführt. Für die meisten Untersuchungen benutzten wir OsO_4 als Fixierungs- und Methacrylat als Einbettungsmittel.

a) Fixierung mit OsO_4, Einbettung in Methacrylat. Entsprechend den lichtmikroskopischen Bildern zeigen auch die elektronenmikroskopischen Aufnahmen alle Zwischenstufen von granafreien bis zu granaführenden Chloroplasten. Abb. 14 dürfte etwa dem Chloroplasten in Abb. 8 entsprechen. Dieser besitzt ein sehr lockeres Lamellensystem und zeigt keine Andeutung von Grana. Es handelt sich hierbei um eine Struktur, die eine Ähnlichkeit mit dem Maschenwerk von *Ankistrodesmus braunii* (STEFFEN und WALTER 1955) aufweist. Die Lamellen können auch viel dichter gepackt und stärker vernetzt sein (Abb. 15). In diesem Fall läßt sich ebenfalls keine deutliche Differenzierung in Stroma- und Granalamellen erkennen. Eine Ausbildung der Grana sieht man aber in dem

Abb. 14. *Micrasterias rotata*. Chloroplast mit sehr lockerem Lamellensystem ohne Andeutung von Grana. Fixierung: OsO_4, Einbettung: Methacrylat. Schrägschnitt. Vergr.: 7500, auf 22500 nachvergr.

Abb. 15. *Micrasterias rotata*. Chloroplast mit sehr dichtem und stark vernetztem Lamellensystem. Keine deutliche Differenzierung in Stroma- und Granalamellen. Fixierung: OsO_4, Einbettung: Methacrylat. Annähernder Querschnitt. Vergr.: 7500, auf 22500 nachvergr.

Abb. 16. *Micrasterias rotata*. Chloroplast mit sehr dichtem, vorwiegend parallel orientiertem Lamellensystem und deutlicher Ausbildung von Grana. Fixierung: OsO_4, Einbettung: Methacrylat. Querschnitt. Vergr.: 7500, auf 30000 nachvergr.



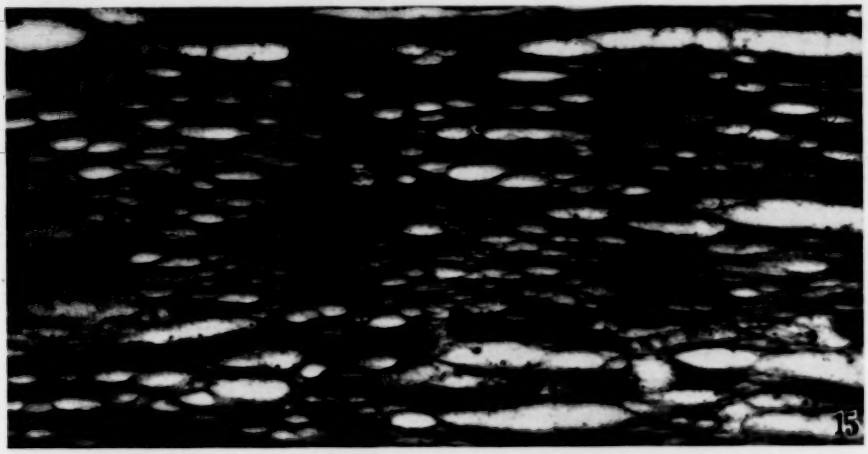


Abb. 14—16. (Legenden auf gegenüberliegender Seite)

Chloroplasten mit sehr dichter, vorwiegend paralleler Anordnung der Lamellen, der in Abb. 16 wiedergegeben ist.

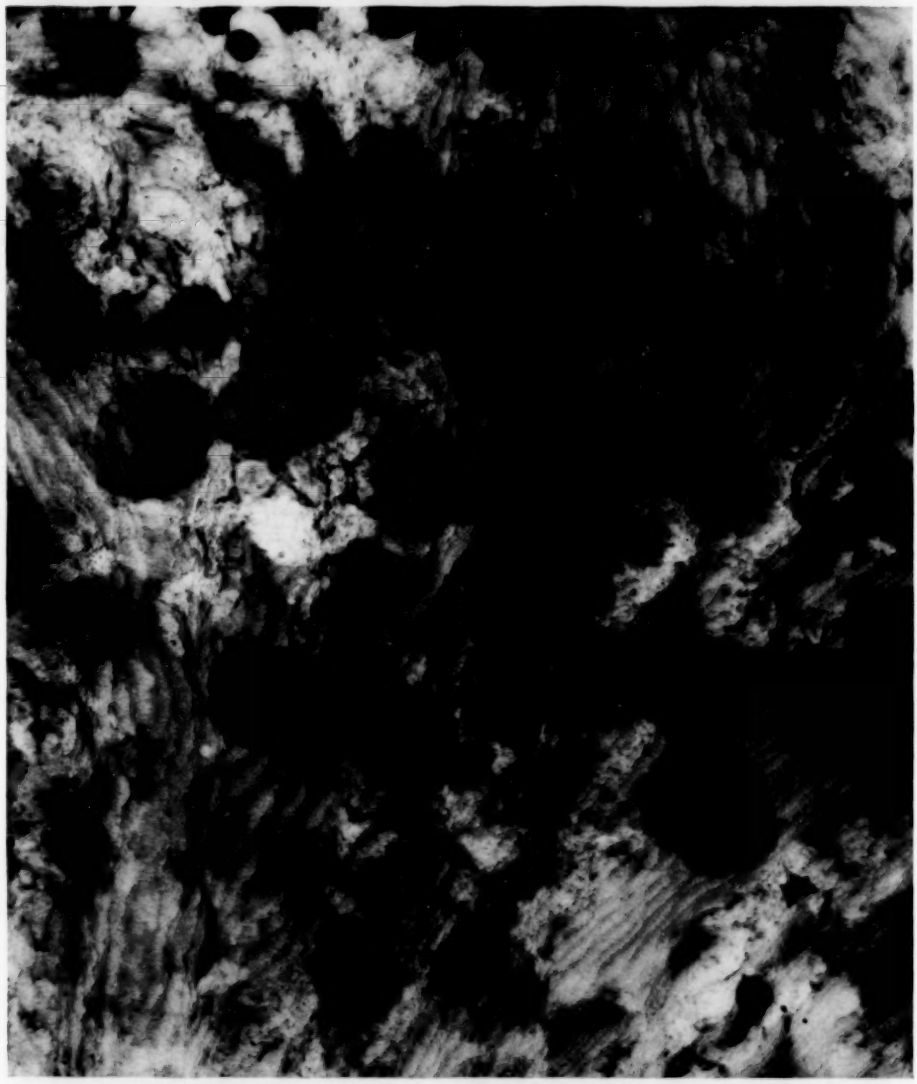


Abb. 17. *Micrasterias rotata*. Chloroplast im Längsschnitt mit deutlicher Granaausbildung. Auf Grund der natürlichen Verwerfung des Chloroplasten sind die Grana- und Stromalamellen meist schräg, zum Teil auch quer getroffen. Fixierung: OsO_4, Einbettung: Methacrylat. Vergr.: 7500, auf 15000 nachvergr.

Es fragt sich natürlich, wieweit das vernetzte Aussehen in Abb. 14 und 15 durch mehr oder weniger schräg angeschnittene Chloroplasten und dadurch bedingte Überschneidungen der einzelnen Lamellen zustande kommt. Es kann auch im Hinblick auf eine nachfolgende Teilung eine stärkere Einfaltung der Lamellen

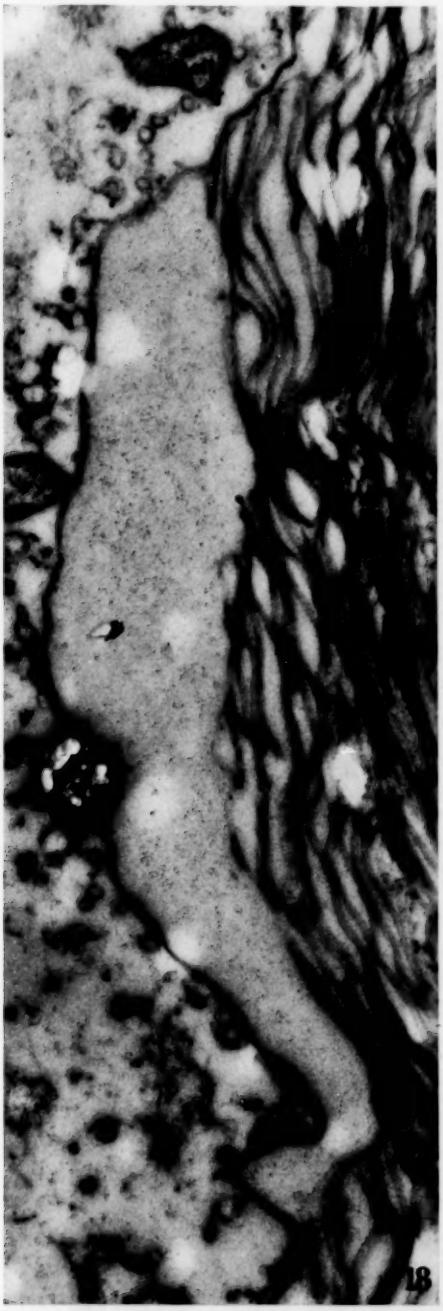
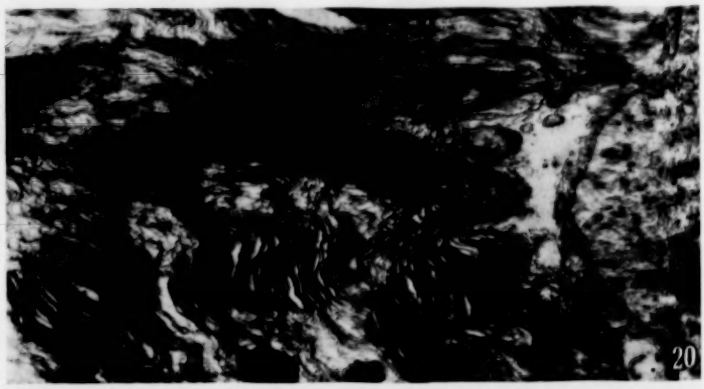


Abb. 18. *Micrasterias rotata*. Chloroplast mit teilweise abgelöster Plastidenmembran. Der lamellenfreie Raum weist keine besondere Strukturierung auf. Fixierung: OsO_4, Einbettung: Methacrylat. Annähernder Querschnitt. Vergr. 7500, auf 22500 nachvergr.

Abb. 19. *Micrasterias rotata*. Chloroplast mit abgelöster Plastidenmembran. Der lamellenfreie Raum zeigt im Unterschied zu Abb. 18 eine dichte Granulierung. Fixierung: OsO_4, Einbettung: Vestopal. Annähernder Querschnitt. Vergr. 7500, auf 22500 nachvergr.



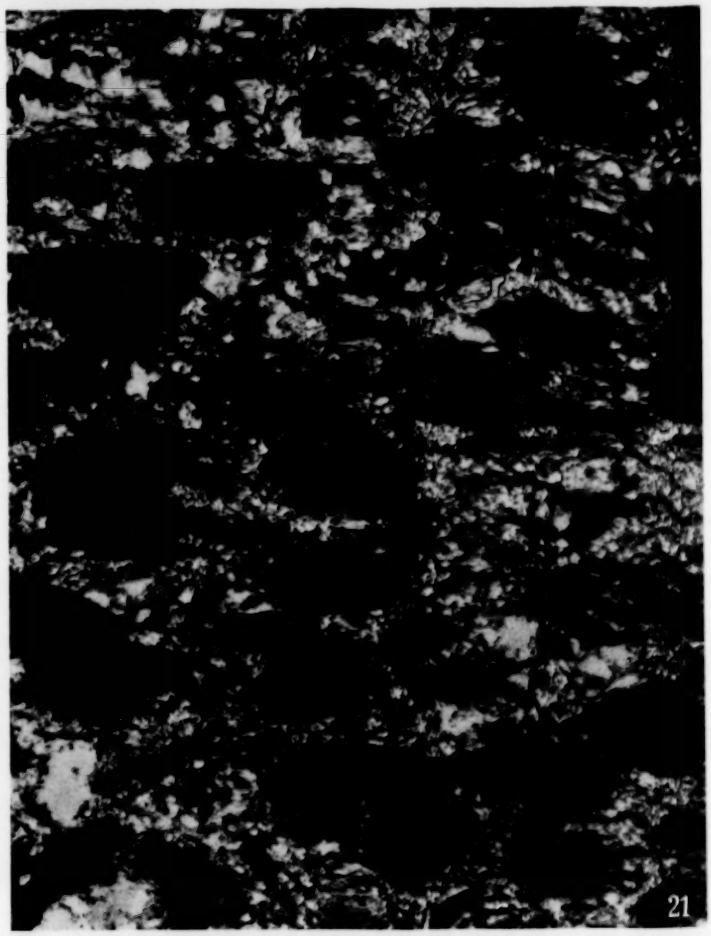


Abb. 20 u. 21. (Legenden auf gegenüberliegender Seite)

vorliegen. Die in Abb. 1 und 13 zum Ausdruck kommende Verwerfung des Chloroplasten bei der Leistenbildung muß sich ebenfalls in irgendeiner Weise auf die Anordnung des Lamellensystems auswirken. In Abb. 16 wird es sich dagegen sehr wahrscheinlich um einen Chloroplasten handeln, der auch im lichtmikroskopischen Bereich nur geringe Verwerfungen und wenig Stromastärke aufweisen dürfte, so daß die Lamellen gestreckt sind.

Das Vorhandensein einer Granastruktur in bestimmten physiologischen Zuständen zeigen deutlich Längsschnitte durch den Chloroplasten. Die in Abb. 17 reproduzierte Aufnahme läßt neben der Differenzierung in Grana- und Stromabereiche auch wieder die Verwerfung des Chloroplasten erkennen. Trotz einer Schnittführung parallel zur Oberfläche sind die Grana- und Stromalamellen meist schräg getroffen und zeigen zum Teil Übergänge zu regelrechten Querschnitten. Die Grana besitzen eine größere Anzahl und eine dichtere Anordnung der Lamellen als das angrenzende Stroma. Ferner sind die Grana stärker durch Osmium geschwärzt.

b) Fixierung mit OsO_4, Einbettung in Vestopal. Aus unveröffentlichten Aufnahmen von Frau Dr. METZNER-KÜSTER geht hervor, daß bei Verwendung von „Vinox K 3" oder „Araldit" als Einbettungsmittel die Lamellen im *Micrasterias*-Chloroplasten zum Teil klarer herauskommen als bei der Verwendung von Methacrylat. Bei Einbettung in Vinox K 3 erscheint die Lamellierung jedoch viel gröber.

Wir machten ferner noch einige Einbettungsversuche mit „Vestopal". Die Chloroplastenlamellen treten wie bei Vinox K 3 deutlicher und mit größerem Kontrast hervor als nach Einbettung in Methacrylat, jedoch ist die Abgrenzung zwischen Grana und Stroma nicht so scharf, da die Abstufung in der Kontrastierung fehlt (Abb. 20). Auffällig ist auch eine meist stark wellenartige Verformung des ganzen Lamellensystems.

In Abb. 19 liegt die Chloroplastenmembran dem Lamellensystem nicht direkt an. Bei stärkerer Vergrößerung ist sie deutlich als Doppelmembran zu erkennen, und der Raum zwischen Membran und Lamellen erscheint dicht granuliert. Die gleiche granulierte Grundsubstanz findet man auch zwischen den aufgelockerten Chloroplastenlamellen.

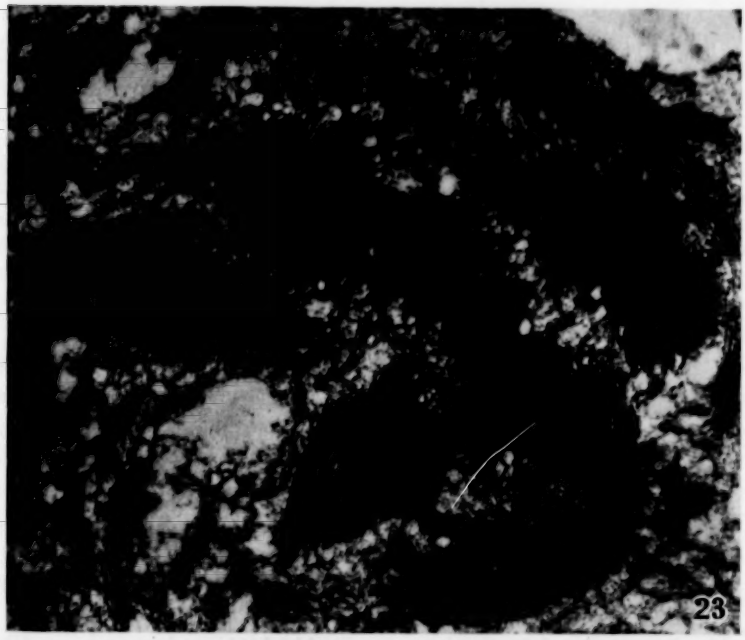
In seltenen Fällen ist die Entfernung der Plastidenmembran von dem Lamellensystem auch nach OsO_4-Fixierung und Methacrylat-Einbettung zu beobachten. Der lamellenfreie Raum weist jedoch nach dieser Behandlung keine besondere Strukturierung auf (Abb. 18).

Abb. 20. *Micrasterias rotata*. Schrägschnitt durch den Chloroplasten nach Fixierung mit OsO_4 und Einbettung in Vestopal. Grana- und Stromabereiche heben sich nicht sehr deutlich voneinander ab. Vergr. 7500, auf 15000 nachvergr.

Abb. 21. *Micrasterias rotata*. Schrägschnitt durch den Chloroplasten nach Fixierung mit $KMnO_4$ und Einbettung in Methacrylat. Lamellierte Grana teils quer, teils schräg getroffen. Das Stroma besteht vorwiegend aus einer granulierten Grundsubstanz und zeigt nur Lamellenbruchstücke. Vergr.: 7500, auf 22500 nachvergr.

Abb. 22. *Micrasterias rotata*. Die Grana des Chloroplasten zeigen eine regelmäßige und dichte Anordnung der Lamellen. Das Stroma besitzt dagegen nur wenige Lamellen in lockerer und ungeordneter Verteilung und eine feingranulierte Grundsubstanz. Fixierung: $KMnO_4$, Einbettung: Methacrylat. Schrägschnitt. Vergr.: 15000, auf 37500 nachvergr.

Wieweit es sich bei der Ablösung der Plastidenmembran um ein Artefakt oder eine natürliche Erscheinung handelt, kann noch nicht gesagt werden. Auf Grund der Strukturlosigkeit des lamellenfreien Raumes und des nur seltenen Auftretens des Bildes nach Methacrylateinbettung (Abb. 18) wäre man geneigt, eine Artefakt-



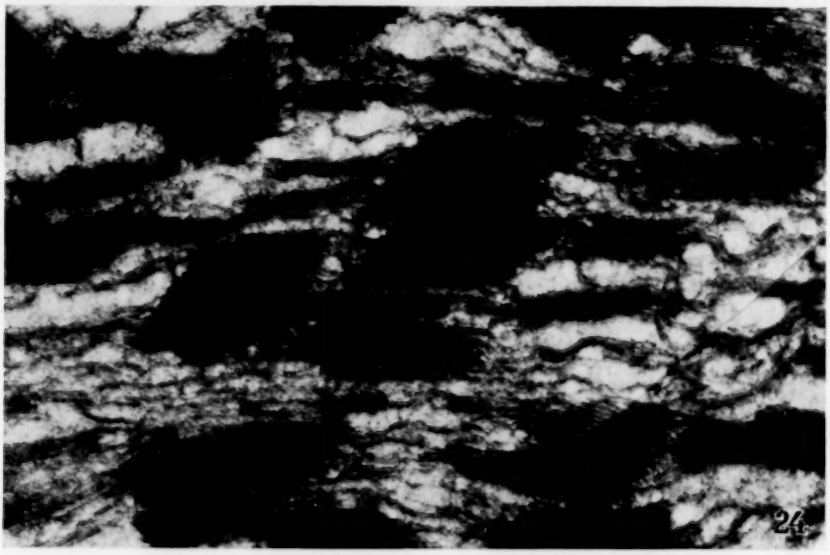


Abb. 23. *Micrasterias rotata*. Chloroplast mit sehr hohen Stapeln von Granalamellen und blasigem Stroma. Fixierung: $KMnO_4$, Einbettung: Methacrylat. Annähernder Querschnitt. Vergr. 15000, auf 30000 nachvergr.

Abb. 24. *Micrasterias rotata*. Chloroplast mit mehr oder weniger durchgehendem Lamellensystem, das im Granabereich eine dichte, im Stromabereich eine lockere, aber vorwiegend parallele Anordnung aufweist. Fixierung: $KMnO_4$, Einbettung: Methacrylat. Annähernder Querschnitt. Vergr. 15000, auf 30000 nachvergr.

bildung anzunehmen. Andererseits sprechen die nach Vestopaleinbettung erhaltenen Bilder (Abb. 19) mehr dafür, daß es sich doch um eine natürliche Struktur handelt. In diesem Zusammenhang ist aber zu beachten, daß auch die Grundsubstanz des Stromas nach OsO_4-Methacrylat-Behandlung, keine granulierte Struktur erkennen läßt. In erster Linie wäre an ein Peristromium im Sinne von SENN (1908, S. 298) und STRUGGER (1956) zu denken, das aber nur in einem bestimmten physiologischen Zustand der Zellen auftreten dürfte. Wenn man die Variabilität der Granastruktur berücksichtigt, ist durchaus an diese Möglichkeit zu denken. Das nur seltene Auftreten der Erscheinung nach Methacrylateinbettung könnte damit zusammenhängen, daß die mit dieser Methode untersuchten Zellen sich zufällig nicht in dem entsprechenden physiologischen Zustand befanden.

c) Fixierung mit $KMnO_4$, Einbettung in Methacrylat. Neben dem Einbettungsmittel wird dem Fixierungsmittel ein wahrscheinlich noch größerer Einfluß auf die elektronenmikroskopisch sichtbaren Strukturen zukommen. So erhielten wir z. B. von der Kernmembran nach OsO_4- und $KMnO_4$-Fixierung recht unterschiedliche Bilder (DRAWERT u. MIX 1961). Dasselbe trifft auch für die Struktur der Plastiden zu, wie die folgenden Aufnahmen belegen.

In Abb. 21 sind die Grana teils quer und teils schräg angeschnitten. Das Stroma besteht aus einer fein granulierten Grundsubstanz und zeigt nur Lamellenbruchstücke, die zum Teil blasig aufgeworfen sind. Eine etwas lockerere Struktur besitzt der in Abb. 22 wiedergegebene Chloroplast. Hier treten aber noch zusammenhängende Stromalamellen deutlich hervor. Während die Grana eine dichte und regelmäßige Anordnung der Lamellen aufweisen, erscheinen die Stromalamellen in sehr lockerer und ungeordneter Verteilung. Zwischen den Stromalamellen befindet sich eine feingranulierte Grundsubstanz. Wie unterschiedlich hoch die Granalamellenstapel in verschiedenen Chloroplasten sein können, geht aus einem Vergleich der Abb. 22 und 23 hervor. Während in den bisher gebrachten Aufnahmen von $KMnO_4$-fixierten Chloroplasten das Stroma nur Lamellen in ungeordneter, lockerer Verteilung oder nur Lamellenbruchstücke erkennen läßt, ist in Abb. 24 ein Chloroplast dargestellt, der auch im Stroma eine zwar lockere, jedoch vorwiegend parallele Anordnung der Lamellen aufweist.

Nach $KMnO_4$-Fixierung treten vor allem in den Grana die Lamellen deutlich hervor. Der Kontrast ist trotz Methacrylat-Einbettung wesentlich besser als nach OsO_4-Fixierung. Der sich bildende Niederschlag ist allerdings sehr grobkörnig, so daß sämtliche Konturen viel gröber erscheinen. Aus diesem Grunde sehen wir vorläufig noch davon ab, vergleichende Größenangaben zu bringen.

5. Besprechung der Ergebnisse

Aus den beigegebenen Bildern geht hervor, wie groß die Variabilität der Chloroplastenstruktur ist. Im lichtmikroskopischen Bild hat man

alle Zwischenstufen von homogenen bis zu grobgranulierten Chloroplasten. Dementsprechend zeigen die elektronenmikroskopischen Aufnahmen alle Übergänge von Chloroplasten mit durchgehenden Lamellen ohne Granaausbildung, über Chloroplasten mit Granaandeutung und solchen mit lamellierter Stroma- und Granastruktur bis zu Chromatophoren, die wohl ausgeprägte Grana besitzen, aber deren Stroma kaum noch eine Lamellenstruktur erkenen läßt. Die in der Literatur zu findenden widersprechenden Angaben sind also nicht verwunderlich. Bei den Desmidiaceen müssen auf Grund des besonderen Teilungsmechanismus in den Chloroplasten, neben der eigentlichen photosynthetischen Tätigkeit, ständig Prozesse zum Aufbau der eigenen Substanz ablaufen. Der Stärkegehalt der Plastiden ist großen Schwankungen unterworfen. Vor allem ist er in alten, sich nicht mehr teilenden Kulturen im allgemeinen hoch. Es können aber auch teilungsfähige Zellen relativ viel Stärke besitzen. Dann wandert ein Teil davon mit dem Chloroplasten in die neue Zellhälfte.

Wenn man bedenkt, wieviel verschiedene physiologische Zustände ein Desmidiaceen-Chloroplast durchwandern muß, ist es naheliegend anzunehmen, daß sich auch seine Struktur entsprechend ändern wird. Man kann eigentlich nicht die Strukturkonstanz erwarten, die wir von den Chloroplasten der ausgewachsenen Dauerzellen höherer Pflanzen bis zu einem gewissen Grade gewohnt sind.

Aus den unterschiedlichen Bildern, die man nach verschiedener Fixierung und Einbettung erhält, geht hervor, daß man sich zur Erschließung der wahren Struktur nicht nur mit einem Fixierungs- und einem Einbettungsmittel begnügen darf (vgl. auch MENKE 1957, 1958). Dies gilt ebenso für Dickenangaben von Lamellen. Nach UEDA (1960) soll zwar kein Unterschied in der Dicke von Chloroplastenlamellen nach OsO_4-Fixierung und nach Gefriertrocknung vorhanden sein, doch stehen noch eingehende Untersuchungen auf breiterer Basis aus. Hier scheint besonders dem Einbettungsmittel eine nicht zu vernachlässigende Rolle zuzukommen.

In einer folgenden Mitteilung wird über den Einfluß von Antibiotica auf die Struktur der Chloroplasten von *Micrasterias* berichtet, und im Zusammenhang mit den dort mitgeteilten Ergebnissen sollen auch die hier skizzierten Befunde diskutiert werden.

Zusammenfassung

Licht- und fluorescenzmikroskopisch kann man bei *Micrasterias rotata* Chloroplasten mit und ohne Grana beobachten. Elektronenmikroskopisch ergibt sich eine große Variabilität der Chloroplastenstruktur. Von Plastiden mit vernetzten Lamellen ohne Andeutung von Grana, über solche mit normaler Grana- und Stromaausbildung bis zu Chromato-

phoren, die wohl ausgeprägte Grana besitzen, aber deren Stroma kaum noch eine Lamellierung erkennen läßt, treten alle Übergänge auf.

Diese Variabilität der Plastidenstruktur hängt wahrscheinlich mit dem besonderen Mechanismus der Plastidenteilung bei *Micrasterias* und den damit verbundenen verschiedenen physiologischen Zuständen der Zelle zusammen.

Der Einfluß von Fixierungs- und Einbettungsmitteln auf die elektronenmikroskopisch abgebildeten Strukturen wird hervorgehoben.

Frau Dr. INGEBORG METZNER-KÜSTER sowie Fräulein DÖRTHE ECKHARDT danken wir für ihre Mitarbeit. Für die uns gewährte Unterstützung gilt der Deutschen Forschungsgemeinschaft unser besonderer Dank.

Literatur

BUTTERFASS, T.: Über Grana, Karyoide und Pyrenoide von *Spirogyra*. Protoplasma **48**, 368—381 (1957).

CARTER, N.: Studies on the chloroplasts of desmids. II. Ann. Botany **33**, 295—304 (1919).

— Studies on the chloroplasts of desmids. IV. Ann. Botany **34**, 303—319 (1920).

CHARDARD, R., et C. ROUILLER: L'ultrastructure de trois algues desmidiées, étude au microscope électronique. Rev. Cytol. Biol. végét. **18**, 153—178 (1957).

CZURDA, V.: Conjugatae. In Handbuch der Pflanzenanatomie, Bd. VI. Berlin: Gebrüder Borntträger 1937.

DANGEARD, P.: Observations sur les chloroplastes des algues et sur les constituants cytoplasmique. Botaniste **35**, 109—123 (1951).

DRAWERT, H., u. M. MIX: Licht- und elektronenmikroskopische Untersuchungen an Desmidiaceen. II. Mitt. Hüllgallerte und Schleimbildung bei *Micrasterias*, *Pleurotaenium* und *Hyalotheca*. Planta (Berl.) **56**, 237—261 (1961).

— — IV. Mitt. Beiträge zur elektronenmikroskopischen Struktur des Interphasekernes von *Micrasterias rotata*. Z. Naturforsch. (1961, im Druck).

FOTT, B.: Algenkunde. Jena: Gustav Fischer 1959.

GEITLER, L.: Über den Granabau der Plastiden. Planta (Berl.) **26**, 463—469 (1936/37).

HEITZ, E.: Untersuchungen über den Bau der Plastiden. I. Die gerichteten Chlorophyllscheiben der Chloroplasten. Planta (Berl.) **26**, 134—163 (1936/37).

HYGEN, G.: Über den Granabau der *Micrasterias*-Plastiden. Planta (Berl.) **27**, 379—380 (1937).

KAJA, H.: Untersuchungen über die Chromatophoren und Pyrenoide der Anthocerotales. Protoplasma **44**, 136—153 (1954).

KRIEGER, W.: Die Desmidiaceen Europas mit Berücksichtigung der außereuropäischen Arten. In RABENHORSTS Kryptogamenflora, Bd. 13, Abt. 1, Teil 1. Leipzig: Akademische Verlagsgesellschaft 1933/37.

LEYON, H.: The structure of chloroplasts. III. A study of pyrenoids. Exp. Cell Res. **6**, 497—505 (1954).

— The structure of chloroplasts. Svensk. Kem. Tidskr. **68**, 70—89 (1956).

MENKE, W.: Artefakte in elektronenmikroskopischen Präparaten. II. Mitt.: Zur Fixierung von Chloroplasten mit Osmiumtetroxyd. Z. Naturforsch. **12** b, 656—659 (1957).

— IV. Mitt.: Dunkelfelduntersuchungen nach Fixierung mit Osmiumtetroxyd. Z. Naturforsch. **13** b, 187—189 (1958).

Metzner, P.: Untersuchungen zur Kenntnis der Plastiden. Flora (Jena) **142**, 81—108 (1955).

Schmitz, F.: Die Chromatophoren der Algen. Verh. naturhist. Ver. Preuß. Rheinland u. Westfalens **40**, 1—180 (1883).

Schussnig, B.: Handbuch der Protophytenkunde, Bd. II. Jena: Gustav Fischer 1960.

Senn, G.: Die Gestalts- und Lageveränderung der Pflanzenchromatophoren. Leipzig: Wilhelm Engelmann 1908.

Steffen, K., u. F. Walter: Licht- und elektronenoptische Untersuchungen über den Feinbau des Chromatophors von *Ankistrodesmus braunii* (Nägeli) Brunnthaler. Planta (Berl.) **45**, 395—404 (1955).

Steinmann, E.: An electron microscope study of the lamellar structure of chloroplasts. Exp. Cell Res. **3**, 367—372 (1952).

Strugger, S.: Elektronenmikroskopische Beobachtungen an den Chloroplasten von *Chlorophytum comosum*. Ber. dtsch. bot. Ges. **69**, 177—188 (1956).

Ueda, K.: On the fine structure of freeze-dried chloroplasts. Biol. J. Nara Women's Univ. **10**, 30—32 (1960).

Waris, H.: Cytophysiological studies on *Micrasterias*. I. Nuclear and cell division. Physiol. Plantarum **3**, 1—16 (1950).

Prof. Dr. H. Drawert,
Botanisches Institut der Universität Marburg a. d. Lahn, Pilgrimstein 4

Planta 56, 666—683 (1961)

Aus dem Systematisch-Geobotanischen Institut der Universität Göttingen

DIE HITZERESISTENZ EINHEIMISCHER IMMER- UND WINTERGRÜNER PFLANZEN IM JAHRESLAUF

Von

O. L. Lange

Mit 5 Textabbildungen

(Eingegangen am 9. Februar 1961)

Die plasmatische Resistenz einer Pflanze gegen die Einwirkung von Kälte, Trockenheit oder Hitze ist keine konstante Größe. Sie kann Schwankungen unterworfen sein, die durch Außenbedingungen hervorgerufen werden oder endogenen Charakter haben. Diese Resistenzschwankungen erweisen sich oftmals als abhängig voneinander. Die Erhöhung oder Erniedrigung der Widerstandsfähigkeit gegen einen Faktor bewirkt die gleichsinnige Veränderung der Resistenz auch gegen einen oder beide anderen der drei Faktoren. Das legt den Schluß nahe, daß der Resistenz gegen diese drei Außeneinflüsse eine gemeinsame plasmatische Komponente zugrunde liegt und bestärkt die Hypothese einer „allgemeinen physiologischen Resistenz" (vgl. Fuchs u. v. Rosenstiel 1958), wie sie besonders von Levitt vertreten wird (vgl. Stocker 1956). Levitt (1951) kommt nach Diskussion der Literatur zu dem Ergebnis: "It is now clear that frost, drought (i.e., desiccation), and heat resistance are all basically similar, and that any resistance to one of these factors carries with it a resistance to the others" (S. 265). Er spricht von einer "clearcut parallel between frost, drought, and heat tolerance or hardiness" (1958, S. 76). Für jahreszeitliche Resistenzschwankungen unter natürlichen Bedingungen wurde eine solche Parallele zwischen Austrocknungsresistenz und Frosthärte bei höheren Pflanzen z. B. von Pisek u. Larcher (1954, vgl. auch Pisek 1952) nachgewiesen. Alpine Immergrüne und *Hedera helix* zeigen einen synchronen Jahresverlauf der Widerstandsfähigkeit ihrer Blätter gegen tiefe Temperaturen und gegen Trockenheit, wobei das Maximum der Resistenz während der Wintermonate und das Minimum im Sommer liegt. Übereinstimmung zwischen Hitze- und Austrocknungsresistenz tritt nach Lange (1955) im jahresperiodischen Gang bei Moosen an Trockenrasenstandorten auf. Hier liegt das Maximum der Widerstandsfähigkeit gegen diese Einwirkungen aber im Sommer, die geringste Hitze- und Trockenresistenz tritt in den Wintermonaten auf. In beiden Fällen, sowohl bei den alpinen Immergrünen, als auch bei den Moosen entspricht die Schwankung der Resistenz jeweils den für die Pflanzen durch die jahreszeitliche Änderung

der Außenbedingungen hervorgerufenen Bedürfnissen: Am alpinen Standort sind für die Immergrünen Kälte- und Trockengefährdung im Winter am höchsten, während für die poikilohydren Moose der Mesobrometen der Sommer die Zeit der größten Trocken- und Hitzebeanspruchung darstellt. Die Resistenzverläufe sind ökologisch also durchaus verständlich. Im Vergleich zu diesen bisherigen Ergebnissen sollten nun bei beiden Pflanzengruppen auch die Jahresläufe der Resistenz gegen den jeweils dritten Faktor betrachtet werden — also die Hitzeresistenz bei Immergrünen und die Kälteresistenz an Moosen. Träfe die Theorie von der Parallelität der Resistenz gegen alle drei genannten Außeneinflüsse ohne Einschränkung zu — was von einer Reihe Autoren bezweifelt wird (z. B. Stocker 1956, Pisek u. Larcher 1954, Henkel 1949, vgl. auch Levitt 1956b, S. 638) — so sollte man erwarten, daß sich bei den Immergrünen auch ihre Hitzeresistenz wie die Kälte- und Austrocknungsresistenz verhält und bei den Moosen ihre Kälteresistenz wie die Austrocknungs- und Hitzewiderstandsfähigkeit. Das würde bedeuten, daß die Immergrünen im Sommer, also zur Zeit der stärksten Hitzebeanspruchung am empfindlichsten gegen die Einwirkung hoher Temperaturen wären, während die Moose gerade im Winter am empfindlichsten gegen die Einwirkung tiefer Temperaturen sein müßten. Ein solches Verhalten würde mit den ökologischen Bedürfnissen der Pflanzen schwer in Einklang zu bringen sein. Die vorliegende Untersuchung soll zur Klärung dieses Widerspruches beitragen. Es wird der jahreszeitliche Hitzeresistenzverlauf der Blätter einiger einheimischer immer- bzw. wintergrüner höherer Pflanzen verfolgt, deren jahreszeitliche Frosthärteschwankungen aus Untersuchungen von Till (1956) bekannt sind und die den Befunden an alpinem Material von Pisek u. Larcher (1954) entsprechen. Damit ist die Möglichkeit gegeben, hier den Jahresgang der Resistenz gegen hohe und gegen tiefe Temperaturen in ihren Grundzügen miteinander zu vergleichen und an diesen Beispielen die Frage der „allgemeinen Resistenz" und ihrer ökologischen Bedeutung für die Pflanzen zu diskutieren[1].

I. Versuchsmaterial und Methodik

Versuchsmaterial. Als Versuchspflanzen wurden Arten ausgewählt, an denen Till (1956) die Frostresistenz untersucht hatte. Mit Ausnahme von *Asarum* stammte alles Material aus dem Freiland des Botanischen Gartens der Universität Göttingen:

1. *Erica tetralix* L., wohlentwickelte Pflanzen vom feuchten Fuße einer kaum beschatteten künstlich angelegten Sanddüne.

2. *Asarum europaeum* L., zunächst aus dem Unterwuchs eines kleinen Buchenbestandes im Botanischen Garten, dann (ab März 1958) von einem Standort am Westerberg nahe Geismar bei Göttingen.

[1] Entsprechende Untersuchungen sind an Moosen durch A. Dircksen und an Farnen durch L. Kappen im Systematisch-Geobotanischen Institut Göttingen zur Zeit im Gange.

3. *Taxus baccata* L., etwa 150 Jahre alter, 11 m hoher Baum.

4. *Ilex aquifolium* L., etwa 15 Jahre alter, 4,50 m hoher Baum.

Für die Arten *Taxus* und *Ilex* verwendete Till in den Jahren 1952—1954 die gleichen Exemplare als Versuchspflanzen, für *Erica* die gleichen Horste, die sich inzwischen weiter vergrößert hatten. Der Standort, an dem Till Material von *Asarum* sammelte, liegt weniger als 10 km vom Botanischen Garten bzw. vom Westerberg entfernt. Alle untersuchten Arten wachsen in Göttingen innerhalb oder zumindest in unmittelbarer Nähe ihres natürlichen Verbreitungsareals.

Resistenzbestimmung. Die Hitzeresistenz der Versuchspflanzen wurde über 2 Jahre von August 1957 bis September 1959 in möglichst gleichen zeitlichen Abständen monatlich einmal bestimmt. Dazu dienten, wie auch bei der Prüfung der

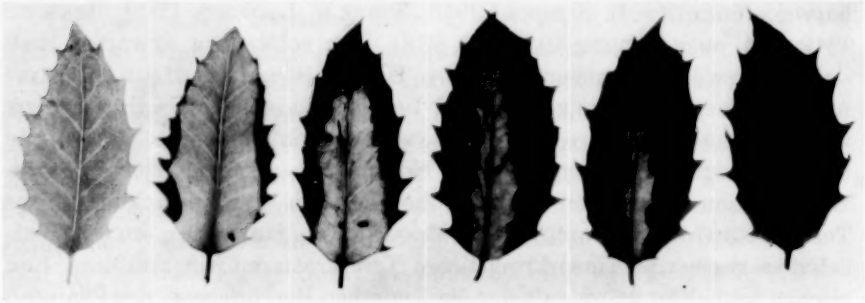


Abb. 1. Ausprägung von Hitzeschäden an den diesjährigen Blättern von *Ilex aquifolium* nach halbstündiger Erhitzung (am 16. 6. 60) auf 45°, 46° bzw. 47° und 4wöchiger Nachkultur (dunkel: braun verfärbte, abgestorbene Gewebebereiche; hell: grüne, ungeschädigte Blattbezirke). Von links nach rechts zunehmende Hitzeschädigung; ganz links unbehandelte Parallelprobe, ganz rechts vollkommen abgetötetes Blatt. (Aufnahme mit Grünfilter im Durchlicht).

Frostresistenz allgemein üblich (z. B. Ulmer 1937, Till 1956), abgeschnittene Pflanzenteile, die unmittelbar vor dem Versuch im Freiland eingesammelt wurden. Bei *Taxus* und *Ilex* wurden 20—30 cm lange, reich beblätterte Äste, bei *Erica* Büschel von Zweigen und bei *Asarum* Rhizomspitzen mit je 2 Blättern verwendet. Diese Sproßteile wurden nach der Standardmethode zur Prüfung der Hitzeresistenz (Levitt 1956a) untergetaucht in einem ständig gerührten Wasserbad (Regenwasser, Temperaturkonstanz $\pm$ 0,15° C) 30 min lang jeweils auf eine bestimmte Temperatur erhitzt (vgl. Lange 1959, Schwemmle u. Lange 1959). Bei jeder der in Abständen von 1° C aufeinanderfolgenden Erhitzungen wurden 2—4 Sproßstücke der einzelnen Arten verwendet. Danach wurden die Zweige in Wassergläser gestellt und zur Beobachtung der auftretenden Hitzeschäden im Gewächshaus bei diffusem Tageslicht und hoher Luftfeuchtigkeit nachkultiviert. Da nach Schwemmle u. Lange (1959) mit tagesperiodischen Schwankungen der Hitzeresistenz gerechnet werden muß, wurden die Erhitzungsversuche immer zur entsprechenden Tageszeit und in der gleichen Reihenfolge ausgeführt. Die einzelnen Ergebnisse sind also miteinander vergleichbar.

Parallel zu den Erhitzungen der Sproßteile unmittelbar im Wasserbad wurden eine Reihe von Kontrollversuchen ausgeführt, bei denen die Pflanzenteile in Beuteln aus dünner Plastikfolie so erwärmt wurden, daß sie mit dem Wasser nicht in Berührung kamen. Es zeigten sich keinerlei Unterschiede in Schadensbild und

Ausmaß der Schädigung beim Vergleich beider Methoden. Hierdurch werden die früheren Befunde (vgl. LANGE 1959, LANGE u. SCHWEMMLE 1960) bestätigt, nach denen bei der Hitzeresistenzbestimmung im Wasserbad die Widerstandsfähigkeit der Pflanzen erfaßt wird, die auch unter natürlichen Umständen im Luftraum für sie von Bedeutung ist.

Die Hitzeschäden machten sich bei den einzelnen Versuchspflanzen in unterschiedlicher Art und Weise bemerkbar. Bei *Ilex* (Abb. 1) zeigte sich eine leichte Schädigung zunächst meist als Verfärbung und später durch Vertrocknen und Absterben eines scharf umrissenen Teils der Blattränder. Mit zunehmender Schädigung dehnte sich dieser Bereich mehr und mehr zur Blattmitte hin aus; die Verfärbung wurde bei alten, ausgewachsenen Blättern schwarz-, bei jungen dagegen hellbraun. Bei *Asarum* riefen die ersten Hitzeschäden viele kleine, dunkle Flecke vor allem auf der Blattunterseite hervor. Durch höhere Temperaturen wurde dann der vordere und randliche Teil der Lamina abgetötet, und erst bei noch höherer Temperatur starben auch die basalen Blattabschnitte ab. Die Hitzeschädigung war hier verbunden mit einer dunkelgrün-schwarzen Verfärbung der betroffenen Blattpartien, die später vertrockneten und sich wellig-kraus nach innen einbogen. Die alten Nadeln von *Taxus* verfärbten sich nach Hitzebehandlung von der Spitze her braun, die jungen starben gewöhnlich im ganzen ab. Die Hitzeschäden bei *Erica* traten im allgemeinen durch Ausbleichen und Gelbfärbung der Blättchen in Erscheinung, die dann ganze abgestorbene Sproßabschnitte verfärbt aussehen ließen.

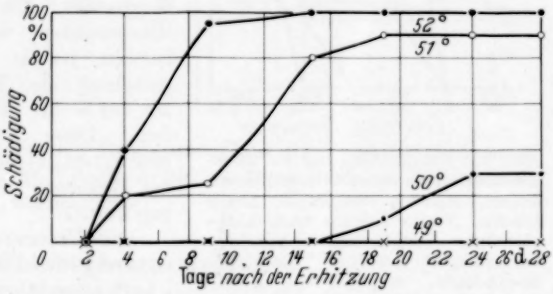


Abb. 2. Auftreten von sichtbaren Schäden an den vorjährigen Blättern von *Taxus baccata* nach halbstündiger Erhitzung (am 23. 6. 59) auf 49° bis 52° in Abhängigkeit von der Dauer der Nachkulturzeit. Ordinate: durch Verfärbung erkennbare geschädigte Bezirke der Nadeln, geschätzt in Prozenten der Gesamtfläche

Bei den angewandten Nachkulturbedingungen verstrich gewöhnlich einige Zeit zwischen der Hitzebehandlung, dem ersten Sichtbarwerden und der maximalen Ausprägung der Hitzeschäden. Diese traten im allgemeinen erst später in Erscheinung als unter Freilandbedingungen (LANGE 1959). Für einen Versuch an *Taxus* ist das in Abb. 2 gezeigt. Dargestellt sind die durch Verfärbung und Vertrocknen erkennbaren Schädigungen der Nadeln, wie sie im Verlauf der Zeit nach der Hitzebehandlung sichtbar wurden. Nach halbstündiger Erhitzung auf 49° machen sich bei den Nadeln auch bei 4wöchiger Nachkultur keinerlei Veränderungen bemerkbar. Nach der Erhitzung auf 50° treten sichtbare Schäden in Form von braunen Nadelspitzen nach 19 Tagen Nachkultur in Erscheinung und steigen dann später bis auf 30% an. Schneller macht sich die Schädigung bei 51° bemerkbar. Sie erreicht hier nach 9 Tagen bereits ein Viertel der Blattfläche und steigt nach 19 Tagen auf den dann gleichbleibenden Wert von 90%. Bei 52° zeigt sich dagegen schon nach 4 Tagen eine braune Verfärbung von etwa 40% der gesamten Blattfläche und nach 15 Tagen sind alle Nadeln vollkommen verfärbt und vertrocknet. Die Zeitspanne zwischen Erhitzung und maximaler Ausprägung der Hitzeschäden dauerte, ähnlich wie für die Frostschädigung

bekannt (Ulmer 1937, Till 1956), je nach Pflanzenart und Jahreszeit verschieden lange. Um in jedem Falle — auch während des Winters — möglichst das Endstadium im Erscheinungsbild der direkten Hitzeschädigung zu erfassen, wurden bei allen Versuchen die Sproßabschnitte grundsätzlich 4 Wochen lang nachkultiviert und dann der Grad der Hitzeschädigung der Blattfläche (d. h. die abgestorbenen verfärbten und vertrockneten Bezirke) in Prozent der Gesamtfläche und im Vergleich mit nichtbehandelten Parallelproben geschätzt. Das Beispiel einer solchen Endprotokollierung ist in Abb. 3 für alle 4 Versuchspflanzen dargestellt. Als vergleichbares Maß für die Hitzeresistenz wird aus den Schädigungskurven jeweils (nötigenfalls durch Interpolation) die Temperatur ermittelt, bei der 50% der Blattfläche geschädigt wurden. Diese Temperatur wird, auf 0,5° genau, im folgenden Text kurz als „Höhe der Resistenz" bzw. als „Resistenzwert" angegeben.

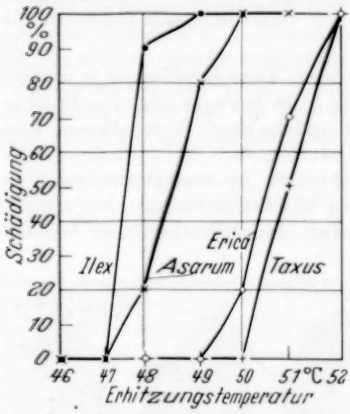


Abb. 3. Blattschädigung an überwinternden Sprossen von *Ilex aquifolium*, *Asarum europaeum*, *Erica tetralix*, *Taxus baccata* nach halbstündiger Erhitzung. Abszisse: Erhitzungstemperatur. Ordinate: geschädigte, abgestorbene Blattbezirke, geschätzt in Prozenten der Blattfläche. (Erhitzung am 11. 2. 59; 4wöchige Nachkultur)

Die Untersuchungen wurden mit Unterstützung der Deutschen Forschungsgemeinschaft ausgeführt. Meiner Frau Rose Lange danke ich für ihre Mitarbeit vor allem im experimentellen Teil.

II. Die Witterungsbedingungen während der Untersuchungsperiode

Die Temperatur- und Niederschlagsverhältnisse während der Zeit der Hitzeresistenzbestimmungen sind in Abb. 4 dargestellt. Sie beziehen sich auf Messungen der Wetterwarte Göttingen, die nur etwa 3 km vom Standort der Versuchspflanzen entfernt liegt, so daß die Werte im wesentlichen übertragen werden dürfen. Die Untersuchungsperiode umfaßte Jahre recht verschiedenen Witterungscharakters. Das kommt vor allem in den Niederschlagsverhältnissen zum Ausdruck: Im Jahre 1958 fiel mehr als doppelt so viel Regen wie 1959, so daß 1958 als anomal naß, 1959 aber als außerordentlich trockenes Jahr zu bezeichnen ist. Diese Unterschiede prägten sich vor allem während der Sommermonate aus, aber auch in der Dauer der Schneebedeckung im Winter (vgl. hierzu Tabelle 1, in der die wichtigsten Klimadaten für die Jahre 1957, 1958, 1959 und die langjährigen Mittelwerte für Göttingen zusammengestellt sind). Der Sommer 1959 war mit einem Lufttemperaturmaximum von 35°, 52 „Sommertagen"[1] und 6 „heißen Tagen"[1] bedeutend wärmer und sonniger als der Sommer 1958 mit maximal 29°, nur 23 „Sommertagen" und keinem einzigen „heißen Tag". Ebenso war das Frühjahr 1959 wärmer und bedeutend trockener als das ausgesprochen feuchte Frühjahr 1958. Die Temperaturbedingungen im Herbst und Winter 1957/58 und 1958/59 wichen weniger stark voneinander ab. Immerhin lag das Temperaturminimum im Spätherbst 1957 bei —23°, während im Winterhalbjahr 1958/59 nur Werte bis —15° auftraten.

Bei der Auswertung der Hitzeresistenz-Messungen besteht also über die Betrachtung der allgemeinen Verhältnisse beim Jahresgang der Widerstands-

[1] Vgl. die Erklärung in Tabelle 1.

Tabelle 1. *Klimadaten für die Jahre 1957, 1958, 1959 und die entsprechenden langjährigen Durchschnittswerte der Wetterwarte Göttingen*

Temperaturmessung in 2 m Höhe über dem Boden. Heißer Tag: Maximum mindestens 30°; Sommertag: Maximum mindestens 25°; Eistag: Maximum unter 0°; Frosttag: Minimum unter 0°.

	Jahresniederschlag mm	Höchste Temperatur °C	Tiefste Temperatur °C	Zahl der heißen Tage	Zahl der Sommertage	Zahl der Eistage	Zahl der Frosttage	Zahl der Tage mit Schneedecke	Mittlere tägliche Sonnenscheindauer Std
1957 . . .	690	35	−23	8	24	9	74	16	4,4
1958 . . .	857	29	−16	0	23	10	81	41	3,9
1959 . . .	392	35	−15	6	52	9	97	20	5,4
Langjährige Durchschnittswerte . .	604	—	—	5	29	20	83	43	4,0

fähigkeit hinaus die Möglichkeit, den Resistenzverlauf der Versuchspflanzen zu entsprechenden Jahreszeiten in 2 Jahren sehr unterschiedlicher Witterungsbedingungen miteinander zu vergleichen.

III. Untersuchungsergebnisse

1. Erica tetralix

Die auffallendsten und größten Schwankungen der Hitzeresistenz während des Jahreslaufes treten bei dem immergrünen Zwergstrauch *Erica tetralix* auf (Abb. 4). Zu Beginn der Untersuchungsperiode, im August 1957, ist die Widerstandsfähigkeit der Blätter diesjähriger Triebe zunächst gering, bereits bei 45,5° (halbstündige Einwirkungszeit) tritt 50%ige Schädigung auf. Die Resistenz steigt dann aber mit abnehmenden Standortstemperaturen (vgl. die Klimadaten in Abb. 4) im Herbst und Winter steil an und erreicht im Januar mit einem Wert von 50,5° ein Maximum. Besonders hohe Hitzeresistenz besitzt *Erica* also während der kältesten Wintermonate Dezember bis Anfang Februar. Im weiteren Verlauf sinkt die Widerstandsfähigkeit wieder ab und liegt Anfang März und Anfang April nur noch bei 47,5° bzw. 46,5°. Ein erneuter Kälteeinbruch im März, der die Lufttemperatur wieder bis auf −13° absinken läßt, macht sich in der Resistenz nicht bemerkbar. Sie erreicht Anfang Mai einen Tiefstwert von 45°. Anschließend steigt sie im Frühjahr und Sommer 1958 aber wieder an: Im August besitzen die Blätter vom Jahrgang 1957 einen Hitzeresistenzwert von 49°. Ihre Vegetationsperiode ist jetzt abgeschlossen, sie werden an der Pflanze braun und fallen ab. Inzwischen sind im Frühjahr 1958 die neuen Sprosse ausgetrieben. Die Resistenz der jungen Blätter ist zur gleichen Zeit niedriger als die der vorjährigen. Beim Altern steigt ihre Widerstandsfähigkeit aber an und erreicht zu Anfang des Herbstes 1958 eine

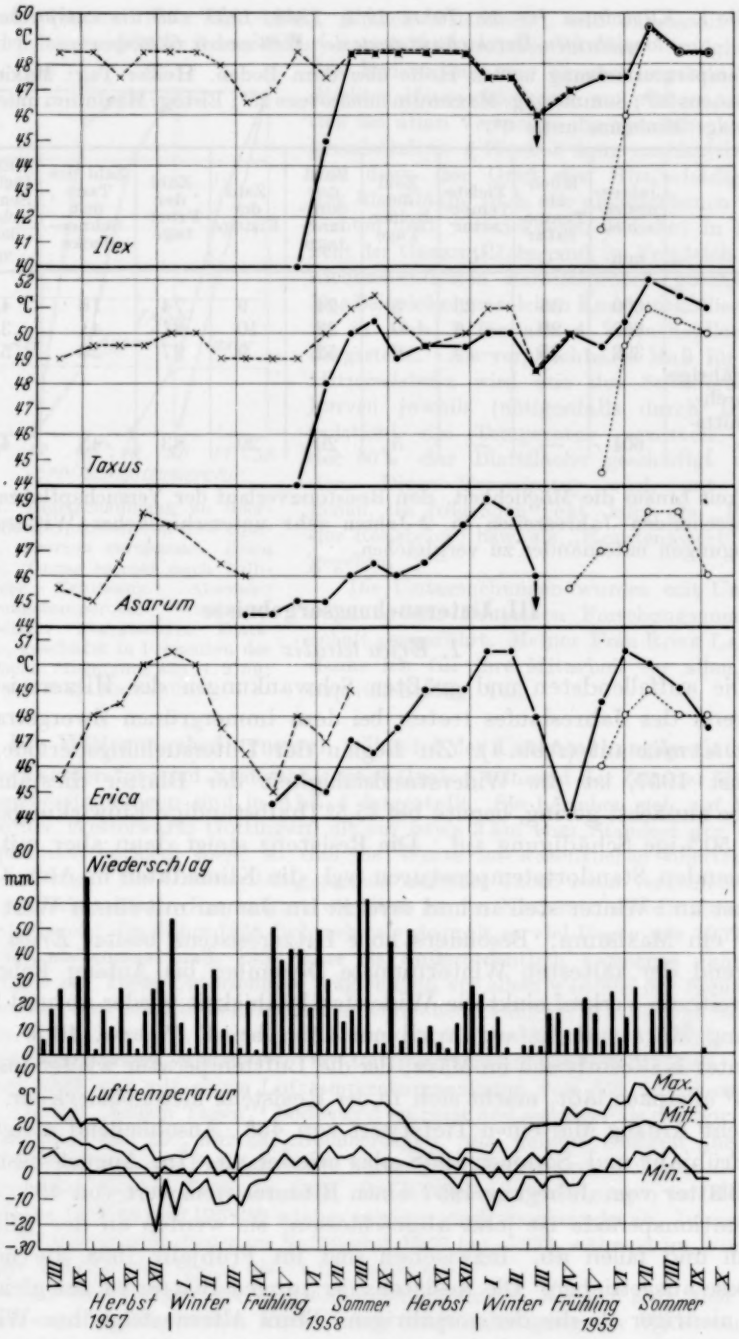


Abb. 4. (Legende auf gegenüberliegender Seite)

Höhe, die der der Blätter vom vorigen Jahrgang im Herbst 1957 entspricht. Von nun an stimmen die Resistenzkurven in den beiden Jahren im Prinzip ihres Verlaufes weitgehend überein. Im Winter 1958/59 liegt das Resistenzmaximum etwas später — so wie auch die Zeit der kältesten Standortstemperaturen. Ab März erfolgt der Abfall der Widerstandsfähigkeit bis zu einem Tiefstwert von 44°. Der erneute Frühjahrsanstieg setzt dann aber bedeutend eher und steiler ein als im Vorjahr; und die Blätter vom Jahre 1958 erreichen Ende Juni einen Sommergipfel ihrer Resistenz, dessen Höhe dem Wert der Widerstandsfähigkeit zur Zeit des Wintermaximums entspricht. Um die Blätter vom Jahrgang 1958 noch länger am Leben zu erhalten, wurden ab Juni 1959 bei einem Teil der Versuchspflanzen die jungen Triebe sofort nach dem Austreiben ausgekniffen. Die alten Blätter, die bei diesen Exemplaren dann ihr aktives Leben fortsetzten, zeigen im Laufe des Sommers bis in den Herbst hinein ein Absinken der Widerstandsfähigkeit. Bei den jungen, diesjährigen Blättern unbehandelter Pflanzen steigt die Hitzeresistenz im Frühjahr und Frühsommer 1959 — ähnlich wie im Vorjahr — an. Der Anstieg erfolgt aber ungleich rascher, und es kommt bereits Ende Juli 1959 auch bei den diesjährigen Blättern zur Ausbildung eines Sommermaximums mit einer Höhe von 49°. Im weiteren Verlauf sinkt die Resistenzkurve der diesjährigen Blätter im Spätsommer 1959 wieder leicht ab, was in Übereinstimmung mit der niedrigen Widerstandsfähigkeit von *Erica* zu Beginn der Untersuchungsperiode im Spätsommer und Herbst 1957 steht. Der bedeutend schnellere Anstieg der Widerstandsfähigkeit sowohl der dies- als auch der vorjährigen Blätter im Frühjahr und Sommer 1959 (gegenüber 1958) und die Ausbildung eines Sommerresistenzgipfels auch bereits bei diesjährigen Blättern ist offensichtlich Ausdruck der wärmeren und trockneren Standortsbedingungen im Sommer dieses Jahres.

Als wesentlich für den Jahreslauf der Hitzeresistenz von *Erica* ergibt sich also der zweimalige Anstieg der Widerstandsfähigkeit mit einem Winter- und einem Sommermaximum, die beide durch einen ausgesprochenen Tiefstwert im Frühling voneinander getrennt sind. Am deutlichsten sind die Höchstwerte der Resistenz einer Blattgeneration im ersten Winter nach dem Austreiben und dem darauffolgenden Sommer ausgeprägt. Im trocken-warmen Sommer 1959 zeigten aber auch schon die diesjährigen Blätter einen — wenn auch nicht so stark hervor-

Abb. 4. Oben: Hitzeresistenz von *Erica tetralix*, *Asarum europaeum*, *Taxus baccata* und *Ilex aquifolium* im Jahreslauf von August 1957 bis September 1959; angegeben ist jeweils die Temperatur, durch die die Blätter der Pflanzen bei halbstündiger Einwirkungszeit zur Hälfte geschädigt wurden („Resistenzwert"). Blätter vom Jahrgang 1957: × ------- × 1958: ●———●, 1959: o·····o. Unten: Witterungsbedingungen während der Untersuchungsperiode nach den Angaben der Wetterwarte Göttingen: Dekadensummen des Niederschlages, Dekadenmittel und -extremwerte der Lufttemperatur in 2 m Höhe

tretenden — Resistenzgipfel. Unter diesen Umständen durchläuft ein Blatt bei natürlichen Bedingungen während seines Lebens also folgende Resistenzphasen: 1. nach dem Austreiben ein Anstieg der Widerstandsfähigkeit bis zu einem ± ausgeprägten Gipfel im ersten Sommer, 2. ein ± scharfes Minimum im Spätsommer oder Herbst, 3. ein Wintermaximum, 4. ein Frühjahrsminimum und 5. ein erneuter Anstieg der Resistenz bis zum natürlichen Ende der Vegetationsperiode des Blattes im zweiten Sommer.

2. Asarum europaeum

Die frisch ausgetriebenen, noch nicht voll ausgewachsenen Blätter der wintergrünen krautigen Waldbodenpflanze *Asarum europaeum* besitzen zu Anfang des Frühjahrs 1958 (Abb. 4, ausgezogene Kurve) einen recht niedrigen Resistenzwert von 44,5°. Ihre Widerstandsfähigkeit steigt während des weiteren Jahresverlaufes im Frühling und Sommer erst langsam an, bleibt von Anfang August bis Anfang November auf etwa gleichbleibender Höhe[1] und nimmt dann in der zweiten Herbsthälfte rascher zu, bis zu einem Maximalwert von 49° im Januar 1959. Anschließend sinkt die Hitzeresistenz wieder ab, und Mitte März werden die Blätter, die jetzt ihre Vegetationsperiode beendet haben, bereits bei Temperaturen unter 46° zu 50% geschädigt. Dieser eingipfelige Verlauf der Resistenzkurve mit nur einem Wintermaximum scheint aber nicht für alle Jahre bezeichnend zu sein. Im trockenwarmen Frühjahr und Sommer 1959 nimmt die Widerstandsfähigkeit der *Asarum*-Blätter des nächsten Jahrganges am gleichen Standort bedeutend rascher und mehr zu als im Vorjahr. In den Monaten Juli und August 1959 kommt es zur Ausbildung eines Sommergipfels der Resistenz mit einer Höhe von 48,5°. Das Resistenzmaximum fällt mit den Monaten der höchsten Standortstemperaturen und der wirksamsten Sommertrockenheit zusammen. In dieser Zeit leiden die Pflanzen an ihrem Standort erheblich unter Wassermangel: Ihre Blätter sind gewelkt und vereinzelt sogar vollkommen vertrocknet. Dabei wird die erhöhte Hitzeresistenz der *Asarum*-Blätter zu dieser Zeit aber sicher nicht unmittelbar durch ihren augenblicklich geringen Wassergehalt bedingt, sondern sie muß tiefergehende Ursachen haben. Pflanzenteile, die nach künstlicher Aufsättigung durch Einstellen in Wasser wieder vollkommen turgeszent waren, zeigten nämlich keine wesentlich niedrigere Hitzewiderstandsfähigkeit als vorher im gewelkten Zustand. — Im Laufe des Septembers 1959 nimmt die Widerstandsfähigkeit von *Asarum* wieder ab. Offensichtlich kommt es in diesem Jahr und in den entsprechenden Jahren, deren Sommer nicht so kühl und feucht sind wie der Sommer 1958, zur

[1] Anfang Oktober macht sich eine geringe, aber wohl nicht gesicherte Depression bemerkbar.

Ausbildung eines Resistenzminimums zu Beginn des Herbstes. Hierauf weisen auch die niedrigen Resistenzwerte im August und Oktober 1957 zu Anfang der Meßperiode an Material aus dem Botanischen Garten hin.

Wie man aus diesen Ergebnissen ersieht, können die wintergrünen Blätter von *Asarum* in ihrem Lebenszyklus zwei Resistenzmaxima durchlaufen — eines im Sommer und eines im Winter — mit einer dazwischenliegenden hitzeempfindlicheren Phase im Herbst. Der Resistenzanstieg im Sommer braucht aber — wie das der Verlauf der Resistenzkurve im kühl-feuchten Jahre 1958 zu erkennen gibt — nicht immer deutlich in Erscheinung zu treten. Hierin ergeben sich auffallende Parallelen zum Resistenzverhalten von *Erica*.

3. Taxus baccata

Geringer als bei den beiden vorausgegangenen Arten sind die Hitzeresistenzschwankungen ausgewachsener Nadeln von *Taxus baccata* (Abb. 4). Trotzdem ist aber auch hier das gleiche Prinzip im Jahresverlauf der Widerstandsfähigkeit erkennbar wie bei *Erica*. Die Nadeln vom Jahrgang 1957 zeigen im Winter 1957/58 zunächst nur einen leichten Resistenzanstieg und ein nur schwach erkennbares Frühjahrsminimum ihrer Widerstandsfähigkeit. Im Sommer 1958 steigt dann aber die Resistenz der nun einjährigen Nadeln zu einem ausgeprägten Sommermaximum an. Es folgen ein Herbstminimum, ein Wintermaximum (1958/59) und ein Minimum im Vorfrühling 1959, nach dem dann die zweimal überwinterten Nadeln ihren natürlichen Vegetationszyklus abschließen. Die jung austreibenden Nadeln sowohl des Jahrgangs 1958 als auch die von 1959 sind im Frühjahr zunächst noch sehr hitzeempfindlich. Mit der Ausreifung ist aber ein steiler Resistenzanstieg verbunden, der in beiden Jahren zu einem Sommermaximum führt. Ähnlich wie bei der vorigen Nadelgeneration zeigt sich bei den Nadeln vom Jahrgang 1958 der Gipfel ihrer Resistenz im ersten Winter (1958/59) ihres Lebenszyklus nicht sehr ausgeprägt, um so deutlicher ist aber der Resistenzanstieg im darauffolgenden Sommer 1959.

4. Ilex aquifolium

Bedeutend unregelmäßiger erscheinen die Resistenzschwankungen der Blätter von *Ilex aquifolium* (Abb. 4). Eine Parallelisierung mit dem Verhalten der übrigen Arten ist nur bedingt möglich. Der Grund hierfür mag darin zu suchen sein, daß die Amplitude der Schwankungen überhaupt sehr gering ist und dadurch eine Differenzierung erschwert wird. Die Höhe der Widerstandsfähigkeit ändert sich von August 1957 bis Februar 1959 bei den ausgewachsenen Blättern von *Ilex* nur innerhalb eines Bereiches von 2°. Lediglich der März und der Juni 1959 sind dann durch einen besonders tiefen bzw. hohen Resistenzwert ausgezeichnet.

Besonders deutlich tritt bei *Ilex* die Abhängigkeit der Resistenz vom Blattalter bei jungen, noch nicht ausgewachsenen Blättern im Frühling und Frühsommer in Erscheinung. Grundsätzlich waren hier die jüngsten Blätter am empfindlichsten, und ihre Widerstandsfähigkeit nahm an den Sprossen mit abnehmender Insertionshöhe, also mit zunehmendem Blattalter erheblich zu[1]. Ende Juni 1958 zeigen das die Schädigungskurven einiger Temperaturstufen in Abb. 5. Ein ähnlicher, gleichsinniger Resistenzgradient von den jungen zu den älteren Blättern trat — wenn auch nicht so ausgeprägt — auch bei *Taxus* und *Erica* auf. Diese Arten verhalten sich darin also anders als *Kalanchoë bloßfeldiana*, bei der sich ein Maximum der Hitzeempfindlichkeit in einem ganz bestimmten Wirtelbereich nachweisen ließ (Lange u. Schwemmle 1960).

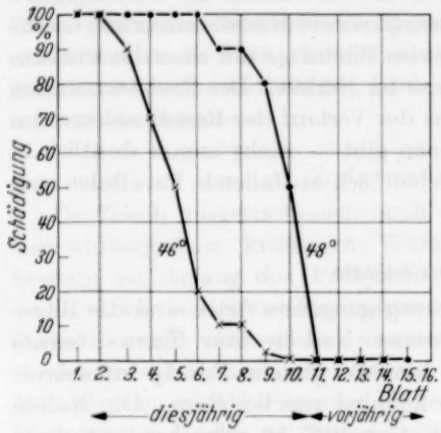


Abb. 5. Hitzeschädigung verschieden alter Blätter von *Ilex aquifolium* bei halbstündiger Erhitzung (am 23. 6. 59) auf 46° bzw. 48° und 4wöchiger Nachkulturzeit. Abszisse: Insertionshöhe des Blattes am Sproß (Zählung von oben nach unten; Blatt Nr. 1: oberstes, von der Gipfelknospe getrenntes, etwa 4 mm großes Blatt, Nr. 11: oberstes vorjähriges Blatt). Ordinate: geschädigter, abgestorbener Bezirk in Prozent der gesamten Blattfläche

IV. Vergleich des jährlichen Verlaufs von Hitze- und Kälteresistenz

Von den zu den Hitzeresistenzuntersuchungen verwendeten Versuchsarten liegen eingehende Frosthärtebestimmungen durch Till (1956) vor, die in den Jahren 1952—1954 im Göttinger Institut durchgeführt wurden, zum Teil an den gleichen Individuen (vgl. S. 668). Es ist also möglich, zumindest die grundsätzlichen Tatsachen im Jahresverlauf von Hitze- und Kälteresistenz der untersuchten Arten miteinander zu vergleichen, wenn auch eine bis in die Einzelheiten gehende Parallelisierung wegen des zeitlichen Abstandes der Untersuchungen nicht durchgeführt werden kann.

In vereinfachter Form ist in Tabelle 2 die Frosthärte[2] der untersuchten Objekte in den Jahren 1952/53 bzw. 1953/54 nach den

[1] Für den Resistenzvergleich im Jahreslauf (Abb. 4) wurden die jungen, diesjährigen Blätter erst berücksichtigt, nachdem sie mindestens eine Länge von 3 cm erreicht hatten. Der Schädigungsgrad der Einzelblätter wurde, wie auch in allen anderen Fällen, gemittelt.

[2] Unter Frosthärte ist die Temperatur verstanden, bei der nach 2stündiger Einwirkungszeit 15—20% der untersuchten Pflanzenteile sichtbare Schäden zeigen (vgl. Till 1956).

Ergebnissen von TILL wiedergegeben. Wie auch alle anderen von TILL untersuchten winter- bzw. immergrünen Arten zeigen *Erica*, *Asarum* und *Ilex* übereinstimmend ein einziges Maximum ihrer Widerstandsfähigkeit gegen tiefe Temperaturen während der kalten und ein Minimum während der warmen Jahreszeit (von *Taxus* liegt kein vollständig untersuchter Jahreszyklus vor, die vorhandenen Werte weisen aber auch hier auf ein ähnliches Verhalten hin). Entsprechende Kälteresistenzschwankungen wurden bei den verschiedensten Arten des gemäßigten Klimabereiches immer wieder beobachtet (ULMER 1937, PISEK u. SCHIESSL 1947, PISEK u. LARCHER 1954, LARCHER 1954, TRANQUILLINI 1958 u. a.). Dazu steht der jährliche Verlauf der Hitzeresistenz der untersuchten Arten in starkem Gegensatz. Wie besonders deutlich bei *Erica* erkennbar wird, sind zwar ihre Blätter im Spätherbst und Winter übereinstimmend sowohl durch hohe Kälte- als auch durch hohe Hitzeresistenz ausgezeichnet. Auch im späten Frühjahr und im Sommer besitzen besonders die vorjährigen Triebe maximale Widerstandsfähigkeit gegen hohe Temperaturen, während aber ihre Frosthärte zu dieser Zeit nach den Erfahrungen von TILL minimal ist. Die Minima der Hitzeresistenz fallen dabei zeitlich etwa mit dem herbstlichen Anstieg der Frosthärte und mit ihrem Abfall im Frühjahr zusammen. Im Prinzip entsprechend scheinen die Verhältnisse bei *Taxus* und zumindest in Jahren mit heiß-trockenen Sommern auch bei *Asarum* zu liegen, unübersichtlicher

Tabelle 2. *Frosthärte (in °C, vgl. Fußnote S. 676) der Blätter von Erica tetralix (März 1952 bis Mai 1953), Asarum europaeum (April 1952 bis März 1953), Taxus baccata (Oktober 1953 bis Mai 1954), Ilex aquifolium (März 1952 bis Mai 1953) im Bereich von Göttingen nach den Untersuchungen von* TILL[1]

Angegeben ist für jeden Monat jeweils der tiefste gefundene Wert

	März	April	Mai	Juni	Juli	August	Sept.	Oktober	Nov.	Dez.	Januar	Februar	März	April	Mai
Erica tetralix .	— 19,5	— 17,0	— 6,0	— 3,5	— 3,5	— 4,0	— 9,5	— 15,5	— 17,5	— 20,0	— 17,0	— 17,5	— 17,0	— 12,0	— 6,0
Asarum europaeum .	—	— 6,5	— 4,0	— 3,5	— 4,0	— 4,5	— 8,0	— 13,0	— 13,0	— 14,0	— 14,5	— 13,5	— 13,0	—	—
Taxus baccata	—	—	—	—	—	—	—	— 17,0	— 21,0	— 25,0	— 33,0	— 35,0	— 29,0	— 16,0	— 10,0
Ilex aquifolium	— 20,5	— 18,5	— 5,0	— 5,5	— 4,5	— 6,0	— 10,5	— 18,5	— 17,5	— 21,5	— 21,5	— 21,5	— 20,0	— 11,5	— 6,5

[1] Werte für *Erica* und *Asarum* nach TILL (1956), die Angaben über *Taxus* und *Ilex* stellte mir Herr Dr. O. TILL freundlicherweise aus seinem unveröffentlichten Material zur Verfügung.

sind sie bei *Ilex*. Von einer durchgehenden Parallele im jährlichen Verlauf der Widerstandsfähigkeit gegen hohe und tiefe Temperaturen kann aber in keinem Fall die Rede sein.

V. Diskussion

Literatur[1]: Einige Hinweise auf das Vorhandensein jahreszeitlicher Unterschiede in der Hitzeresistenz von Pflanzen unter natürlichen Verhältnissen finden sich in der älteren Literatur z. B. bei Illert (1924) und Sapper (1935). Nach Illert zeigt sich bei *Oxalis acetosella*, „daß die Wärmeresistenz im Frühjahr und Sommer kaum Unterschiede aufweist, dagegen im Spätherbst bedeutend ansteigt". Sapper gibt an, daß bei Sprossen von *Prunus laurocerasus*, *Hedera helix* und *Linaria cymbalaria* die Hitzewiderstandsfähigkeit unmittelbar nach einer Frostperiode deutlich höher ist als nach einer längeren Periode warmen und regnerischen Wetters. Bei diesen Angaben handelt es sich aber jeweils nur um Einzelbestimmungen, die sich kaum mit den eigenen Ergebnissen vergleichen lassen.

Eingehendere Untersuchungen über jahreszeitliche Hitzeresistenzschwankungen, die zum Teil gleichzeitig mit den eigenen Bestimmungen vorgenommen wurden, liegen dagegen aus neuester Zeit von russischer Seite vor. Sie wurden von Alexandrow, Lutova u. Feldmann (1959) an den drei Gräsern *Dactylis glomerata*, *Elymus arenarius*, *Elymus angustus* und an *Hepatica nobilis* in Leningrad ausgeführt. Zur Bestimmung der Hitzeresistenz wurden hier von Freilandexemplaren der Pflanzen Blattstücke entnommen, mit Wasser infiltriert und für 5 min im Wasserbad erhitzt. Hitzeschädigung wurde durch Erlöschen der Plasmabewegung in den Zellen der Blattepidermis erkannt. Parallel hierzu wurde von Alexandrow u. Mitarb. die Resistenz des Blattgewebes gegen tiefe Temperaturen, gegen hohen hydrostatischen Druck und gegen Äthylalkohol verfolgt. — Während die ausgewachsenen Blätter von *Hepatica nobilis* nur unwesentliche Schwankungen zeigten, wiesen die Grasarten übereinstimmend einen eingipfeligen Jahresverlauf ihrer Hitzeresistenz auf, wobei der Gipfel der Widerstandsfähigkeit während der kältesten Jahreszeit im Winter auftrat. Nahezu synchron dazu verlief die Resistenz der Pflanzen auch gegen die übrigen schädigenden Einflüsse, insbesondere ihre Frosthärte.

Die höheren Pflanzen des gemäßigten Klimabereiches durchlaufen einen jahreszeitlichen Aktivitätswechsel zwischen einer sommerlichen aktiven Phase und einer winterlichen Ruheperiode, der zumindest teilweise endogener Natur ist (Bünning 1956). Dieser Wechsel kann sich nach Bünning in Veränderungen des Wassergehaltes und des osmotischen Wertes der Zellen, in Plasmazustandsänderungen, in chemischen Veränderungen der Plasmaeiweiße, in Schwankungen der Fermentaktivität usw. bemerkbar machen. Außerdem ist der jährliche Aktivitätswechsel mit Resistenzschwankungen verbunden, und eine erhöhte Widerstandsfähigkeit der Pflanzen stellt einen wesentlichen Ausdruck der Ruheperiode während der kalten Jahreszeit dar. Für immergrüne Arten wurde das an ihrer großen winterlichen Frosthärte vielfach gezeigt und von Pisek u. Larcher (1954) auch an der hohen Trockenresistenz

[1] Ausführliche Literaturzusammenfassungen zur Hitzeresistenz der Pflanzen vgl. Levitt (1956a, b, 1958), Precht, Christophersen u. Hensel 1955.

während der Wintermonate nachgewiesen. In dieses Bild fügt sich nun, in Übereinstimmung mit der Levittschen Ansicht über die Parallelität der Resistenz gegen die verschiedenen Außeneinflüsse, die im Winter auch erhöhte Hitzeresistenz von *Erica tetralix*, *Asarum europaeum* und *Taxus baccata* und der von ALEXANDROW u. Mitarb. (1959) untersuchten Gräser gut ein. Es handelt sich hier offensichtlich wirklich um eine unspezifische, allgemeine Resistenzerhöhung im Zusammenhang mit dem jährlichen Aktivitätswechsel der Pflanzen, die durch die winterlich tiefen Temperaturen gesteuert wird. Von ihr können nicht nur Kälte-, Trocken- und Hitzeresistenz betroffen werden, sondern nach ALEXANDROW u. Mitarb. auch die Widerstandsfähigkeit der Pflanzen gegen hohen hydrostatischen Druck und gegen Alkohol. Die gleichzeitige und gleichsinnige Erhöhung der Widerstandsfähigkeit gegen die einzelnen Außeneinflüsse weist dabei darauf hin, daß den verschiedenen Arten pflanzlicher Resistenz eine gemeinsame plasmatische Komponente zugrunde liegen kann. Für das Verhalten während der winterlichen Ruheperiode bestätigen die eigenen Ergebnisse also durchaus die Vorstellungen LEVITTS. Nicht gilt das aber für die sommerlichen Verhältnisse. Hier machen die Ergebnisse an *Erica* und *Asarum* (und wohl auch an *Taxus*) die Annahme eines anderen Reaktionssystems im pflanzlichen Plasma notwendig, das die sommerliche Erhöhung der Hitzeresistenz unabhängig von der Kälteresistenz (und auch eventuell der Trockenresistenz) bewirkt. Dieser Anstieg der Widerstandsfähigkeit gegen hohe Temperaturen stellt wahrscheinlich eine spezifische, direkte Resistenzadaptation an die sommerlich höhere Umgebungstemperatur der Pflanzen dar. Gestützt wird diese Annahme durch die Tatsache, daß die Höhe des Hitzeresistenzmaximums bei den beiden Arten *Asarum* und *Erica* im Sommer stark von den jeweiligen Witterungsbedingungen abhing: Im kalt-feuchten Sommer 1958 zeigten die Blätter von *Asarum* und vor allem die diesjährigen Triebe von *Erica* nur einen schwachen oder gar keinen Anstieg ihrer Hitzeresistenz, im darauffolgenden warm-trocknen Sommer 1959 machte er sich dagegen deutlich bemerkbar[1]. Eine Entscheidung darüber, ob die plasmatische Ursache für den unspezifischen, im Zuge der allgemeinen Resistenzerhöhung „mitgeschleppten" Hitzeresistenzanstieg im Winter und den spezifischen, offenbar adaptativ bedingten Gipfel der Widerstandsfähigkeit im Sommer bei den untersuchten Arten die gleiche ist oder nicht, kann nach den bisher vorliegenden Untersuchungen noch nicht getroffen werden. Wahrscheinlich wird sich aber

[1] Entgegen den Angaben von SAPPER (1935) ließ sich in noch unveröffentlichten Untersuchungen an *Commelina africana* und *Phoenix dactylifera* die Möglichkeit einer Resistenzadaptation bei Kultur unter erhöhten Temperaturbedingungen experimentell nachweisen und an mediterranen Arten in Spanien an Standorten verschiedener Höhenlage auch im Freiland wahrscheinlich machen (vgl. auch ALEXANDROW u. FELDMANN 1958, CHRISTOPHERSEN u. PRECHT 1953).

wohl die Annahme zweier verschiedener innerer Komponenten als notwendig erweisen. Für die nichtspezifische, allgemeine Resistenzerhöhung während der winterlichen Ruheperiode könnte mit Levitt (1956a, 1958), Alexandrow u. Mitarb. (1959) u. a. dann eine allgemeine Stabilisierung der Plasmaeiweiße verantwortlich gemacht werden. Zur Erklärung des spezifischen Sommergipfels der Resistenz, der bezeichnenderweise mit der Phase aktiven Stoffwechsels im Jahreslauf der Pflanze zusammenfällt, könnte man an eine erhöhte Fähigkeit der Zellen zur Resynthese der durch Erhitzung denaturierten Eiweiße denken, wie sie z. B. von Allen (1950) bei thermophilen Bakterien diskutiert wird und auch von Levitt (1956a, b) und Alexandrow (1956) als Möglichkeit in Betracht gezogen wird. Für diese Annahme fehlen freilich bisher direkte experimentelle Beweise.

Die eigenen Ergebnisse, insbesondere das Sommermaximum der Hitzeresistenz, stimmen nicht mit den Befunden von Alexandrow u. Mitarb. (1959) an Gräsern überein. Die Epidermiszellen der Blätter besaßen hier während des Sommers bedeutend geringere Resistenz als im Winter. Es mag sein, daß die unterschiedlichen Methoden für diese Unstimmigkeit verantwortlich gemacht werden können. Es wird aber auch zu prüfen sein, ob die Gramineen sich vielleicht grundsätzlich anders verhalten als die eigenen Versuchspflanzen oder ob die speziellen klimatischen Verhältnisse als Grund dafür anzunehmen sind, daß sich bei den sorgfältigen Untersuchungen von Alexandrow u. Mitarb. kein adaptativer Sommergipfel der Hitzeresistenz zeigte.

Für die Existenz der Pflanzen an ihren natürlichen Standorten kommt dem winterlichen Anstieg der Hitzeresistenz gewiß keine unmittelbare Bedeutung zu. Wichtig kann für sie aber die Hitzehärtung in den Sommermonaten werden, die bei ausgewachsenen Trieben von *Erica* z. B. einen Anstieg des Resistenzwertes um 6,5° bewirkte. Bestünde diese Möglichkeit zur sommerlichen Resistenzerhöhung nicht, so müßten die Blätter von *Erica* auch während der heißesten Sommermonate die niedrige Widerstandsfähigkeit des Frühjahrs behalten, sie würden also — am Beispiel des Jahres 1959 — bei halbstündiger Erhitzung auf 44° zur Hälfte, auf 42° zu etwa 20% geschädigt werden. Eine solche niedrige sommerliche Resistenz könnte an zeitweise heißen Standorten (z. B. Hochmooren) für die Pflanze auch unter mitteleuropäischen Klimaverhältnissen, wo mit Blattemperaturen bis 50° in Extremfällen zu rechnen ist, verhängnisvoll werden. Die ökologische Bedeutung der sommerlichen, spezifischen Resistenzsteigerung liegt somit auf der Hand, sie wird durch Untersuchungen an anderen Arten vor allem xerothermer Standorte weiter erhärtet werden müssen.

Zusammenfassung

Zwei Jahre hindurch wurde an Blättern der Freilandpflanzen *Erica tetralix*, *Asarum europaeum*, *Taxus baccata* und *Ilex aquifolium* der Verlauf der Hitzeresistenz durch monatliche Bestimmungen verfolgt.

Dabei zeigten sich zum Teil auffällige jahresperiodische Schwankungen der Empfindlichkeit gegen die Einwirkung hoher Temperaturen.

1. Die größten jahreszeitlichen Unterschiede in der Widerstandsfähigkeit ließen sich bei *Erica* nachweisen. Hier können die Blätter in ihrem Lebenszyklus nacheinander folgende Resistenzphasen durchlaufen: 1. beginnt nach dem Austreiben im Frühjahr ein Anstieg der Widerstandsfähigkeit, der zu einem ± ausgeprägten Gipfel der Hitzeresistenz im ersten Sommer führen kann (1959 gut ausgebildet, 1958 nicht erkennbar); dann folgt 2. unter Umständen (vgl. 1959) ein Absinken der Resistenz im Spätsommer oder Herbst. Anschließend findet aber 3. ein weiterer Anstieg der Widerstandsfähigkeit und die Ausbildung eines Wintermaximums statt. 4. folgt ein steiler Resistenzabfall, die Ausbildung eines Frühjahrsminimums und 5. ein nochmaliger Anstieg der Widerstandsfähigkeit bis zum natürlichen Ende der Vegetationsperiode der Blätter im zweiten Sommer. Nicht nur bei den diesjährigen, sondern auch bei den vorjährigen Trieben trat die sommerliche Resistenzerhöhung im heiß-trockenen Sommer 1959 deutlicher in Erscheinung als im kühlfeuchten Jahr 1958.

Bei den immergrünen Nadeln von *Taxus* war die Schwankungsamplitude der Hitzeresistenz geringer, die Höchstwerte lagen hier aber ebenfalls sowohl im Sommer als auch im Winter. Auch die wintergrünen Blätter von *Asarum* können (zumindest in Jahren mit warm-trockenen sommerlichen Witterungsbedingungen) während ihres einjährigen Lebenszyklus offenbar zwei Resistenzmaxima durchlaufen, nämlich eines während der wärmsten und eines während der kältesten Jahreszeit; dazwischen befindet sich im Herbst eine hitzeempfindlichere Phase. Unübersichtlich war dagegen das Resistenzverhalten von *Ilex*.

Bei allen untersuchten Arten — am auffälligsten bei *Ilex* — war die Hitzewiderstandsfähigkeit der jungen Blätter auffallend geringer als die der älteren.

2. Der jahreszeitliche Verlauf der Hitzeresistenz wurde mit der Frosthärte der Pflanzen verglichen, die an den gleichen Arten (zum Teil an denselben Exemplaren) von Till (1956) in den Jahren 1952—1954 in Göttingen untersucht worden war. Danach besteht offensichtlich keine durchgehende Parallele im Jahresgang der Resistenz gegen hohe und gegen tiefe Temperaturen. Der Winter ist bei *Erica*, *Asarum* und *Taxus* durch deutliche Gipfel von Kälte- und Hitzeresistenz ausgezeichnet, was für die Erhöhung einer „allgemeinen Resistenz" im Zuge des jahresperiodischen Aktivitätswechsels der Pflanzen spricht. Der sommerliche Anstieg der Hitzewiderstandsfähigkeit geschieht aber unabhängig von der Kälteresistenz und kann vielleicht als spezifische Resistenzadaptation an die höheren Standortstemperaturen der Pflanzen im Sommer gedeutet werden.

3. Die sommerliche Hitzeresistenz-Erhöhung kann (im Gegensatz zum Wintergipfel) wohl für die Existenz der Pflanzen an ihren natürlichen Standorten von Bedeutung werden.

Literatur

Alexandrow, W. J.: Zytologische Analyse der Hitzeresistenz pflanzlicher Zellen und einige Aufgaben der Zytoökologie. [Russisch.] Bot. Ž. **41**, H. 7, 939—961 (1956).

—, u. N. L. Feldmann: Untersuchungen über die reaktive Erhöhung der Resistenz der Zellen bei Einwirkung hoher Temperaturen. [Russisch.] Bot. Ž. **43**, H. 2, 194—213 (1958).

—, M. I. Lutova u. N. L. Feldmann: Jahreszeitliche Änderungen in der Resistenz der Pflanzenzellen gegen die Einwirkung verschiedener Agentien. [Russisch.] Zitologia **1**, H. 6, 672—691 (1959).

Allen, M. B.: The dynamic nature of thermophily. J. gen. Physiol. **33**, 205—214 (1950).

Bünning, E.: Vorkommen und Arten des Aktivitätswechsels. Endogene Aktivitätsrhythmen. In Handbuch der Pflanzenphysiologie, Bd. II, S. 840—863 u. S. 878—907. Berlin-Göttingen-Heidelberg: Springer 1956.

Christophersen, J., u. H. Precht: Die Bedeutung des Wassergehaltes der Zelle für die Temperaturanpassung. Biol. Zbl. **72**, 104—119 (1953).

Fuchs, W. H., u. K. v. Rosenstiel: Ertragssicherheit. In Handbuch der Pflanzenzüchtung, 2. Aufl., Bd. I, S. 365—442. Berlin u. Hamburg 1958.

Henkel, P. A.: Über die Ursachen der Dürreresistenz einiger Xerophyten und Halophyten. [Russisch.] Bot. Ž. **34**, 461—473 (1949).

Illert, H.: Botanische Untersuchungen über Hitzetod und Stoffwechselgifte. Bot. Archiv **7**, 133—141 (1924).

Lange, O. L.: Untersuchungen über die Hitzeresistenz der Moose in Beziehung zu ihrer Verbreitung. I. Die Resistenz stark ausgetrockneter Moose. Flora (Jena) **142**, 381—399 (1955).

— Untersuchungen über Wärmehaushalt und Hitzeresistenz mauretanischer Wüsten- und Savannenpflanzen. Flora (Jena) **147**, 595—651 (1959).

—, u. B. Schwemmle: Untersuchungen zur Hitzeresistenz vegetativer und blühender Pflanzen von Kalanchoë bloßfeldiana. Planta (Berl.) **55**, 208—225 (1960).

Larcher, W.: Die Kälteresistenz mediterraner Immergrüner und ihre Beeinflußbarkeit. Planta (Berl.) **44**, 607—635 (1954).

Levitt, J.: Frost, drought, and heat resistance. Ann. Rev. Plant Physiol. **2**, 245—268 (1951).

— The hardiness of plants. New York: Academic Press 1956a.

— Temperature (heat and cold resistance, frost hardening). In Handbuch der Pflanzenphysiologie, Bd. II, S. 632—638. Berlin-Göttingen-Heidelberg: Springer 1956b.

— Frost, drought, and heat resistance. In Protoplasmatologia, Bd. VIII/6. Wien: Springer 1958.

Pisek, A.: Zur Kenntnis der Frosthärte alpiner Pflanzen. Naturwissenschaften **39**, 73—78 (1952).

—, u. W. Larcher: Zusammenhang zwischen Austrocknungsresistenz und Frosthärte bei Immergrünen. Protoplasma **44**, 30—46 (1954).

—, u. R. Schiessl: Die Temperaturbeeinflußbarkeit der Frosthärte von Nadelhölzern und Zwergsträuchern an der alpinen Waldgrenze. Ber. naturw.-med. Verein Innsbruck **47**, 33—52 (1947).

Precht, H., J. Christophersen u. H. Hensel: Temperatur und Leben. Berlin-Göttingen-Heidelberg: Springer 1955.

Sapper, I.: Versuche zur Hitzeresistenz der Pflanzen. Planta (Berl.) **23**, 518—556 (1935).

Schwemmle, B., u. O. L. Lange: Endogen-tagesperiodische Schwankungen der Hitzeresistenz bei Kalanchoë bloßfeldiana. Planta (Berl.) **53**, 134—144 (1959).

Stocker, O.: Die Dürreresistenz. In Handbuch der Pflanzenphysiologie, Bd. III, S. 696—741. Berlin-Göttingen-Heidelberg: Springer 1956.

Till, O.: Über die Frosthärte von Pflanzen sommergrüner Laubwälder. Flora (Jena) **143**, 499—542 (1956).

Tranquillini, W.: Die Frosthärte der Zirbe unter besonderer Berücksichtigung autochthoner und aus Forstgärten stammender Jungpflanzen. Forstwiss. Cbl. **77**, 89—105 (1958).

Ulmer, W.: Über den Jahresgang der Frosthärte einiger immergrüner Arten der alpinen Stufe, sowie der Zirbe und Fichte. Jb. wiss. Bot. **84**, 553—592 (1937).

Priv.-Doz. Dr. Otto L. Lange,
Botanisches Institut der Technischen Hochschule Darmstadt,
Roßdörfer Str. 140

Planta 56, 684—690 (1961)

Aus dem Botanischen Institut der Universität Tübingen

DARK REACTIONS IN THE FLOWERING OF *LEMNA PERPUSILLA* 6746

By

W. K. PURVES

With 5 Figures in the Text

(Received February 22, 1961)

1. Introduction

In general, the flowering of short day plants is inhibited by brief exposures to low intensity red light (540—695 mμ) near the middle of the daily dark period, and this inhibition is reversible by subsequent exposure to far-red light (695—800 mμ). However, the inhibition of flowering by red light in *Lemna perpusilla*, a short day plant, is not reversible by far-red light (HILLMAN 1959a). NAKAYAMA (1958) observed a similar situation in the short day plant *Pharbitis nil*. He also noted that far-red light by itself was inhibitory, and this effect was reversible by red light. The present study of the responses of *L. perpusilla* to red and far-red light revealed the existence in this plant of the same reversible inhibition of flowering by far-red light.

2. Material and Methods

Lemna perpusilla strain 6746, kindly supplied by Dr. W. S. HILLMAN (Yale Univ.), was grown in aseptic culture. The experimental techniques employed were essentially those of HILLMAN (1959a). All cultures were grown in HUTNERs medium (HUTNER 1953) containing 1% sucrose and adjusted to an initial pH of 6.3. Experimental cultures were inoculated with single 3-frond colonies taken from stock cultures 5—10 days old (grown in constant light). Flowering was evaluated by the method of HILLMAN (1959a) as follows. All fronds in the culture to be scored were counted except for those which did not protrude beyond the mother fronds. The number of fronds exhibiting flowers or floral primordia was determined by dissection of all fronds under 32x magnification. This number divided by the total frond number and multiplied by 100 represents the "flowering per cent" (FL%) of the culture. FL% values were derived from cultures containing at least 50 fronds. Data were obtained by exposing the cultures to four 24-hr. experimental cycles followed by 3 days of constant light. All trends shown in the figures were confirmed by repetition. Qualitative agreement between experiments was excellent, but the maximum FL% obtainable under a given set of conditions varied from day to day.

Two growth chambers at 26—27° C were employed: a light room illuminated by a single 40 W Osram warm white fluorescent tube (HNW 202) delivering roughly 300 lux at plant level, and a dark room containing sources of red and far-red radiation. In the dark room, all necessary manipulations were performed in absolute darkness. The source of red radiation was a single 40 W Philips red fluorescent tube (TL 40 W/15) mounted 90 cm. above plant level. Such tubes show an emission

maximum at 660 mμ and emit virtually no radiation of wavelengths shorter than 600 or longer than 700 mμ. For the emission spectrum, see MOHR and SCHOSER (1959, Fig. 6). The source of far-red radiation was the apparatus illustrated by MOHR and SCHOSER (1959, Fig. 7). An Altrilux reflector lamp (Philips, 500 W) was immersed in water which served both to cool the lamp and to filter out longer wavelengths. The light then passed through a Schott RG-9 (far-red) filter 2 mm. thick and a 2-mm Schott BG-3 (blue) filter. The RG-9 filter passes a high percentage of the incident far-red radiation and only a very slight fraction of light at wavelengths below 700 mμ (MOHR and SCHOSER 1959, Fig. 8). Red light was virtually eliminated by the addition of the BG-3 filter. The surface of the lamp was located 50 cm. above plant level.

3. Experimental Results

Critical day length for flowering. Cultures were exposed to four 24-hr. cycles with light periods of from 6 to 16 hr. per cycle. All cultures were then kept in constant light for 3 days, after which flowering was evaluated. The results of a typical experiment are given in Fig. 1. No flowering occurred with a day length (light period) of 14 hr. or longer, some with a 12-hr. day; and maximum flowering took place with day lengths of 10 hr. or less. These results are similar to, but not identical with, those obtained by HILLMAN (1959a). In later experiments, main light periods of 10 hr. or less were given in order to ensure maximum flowering.

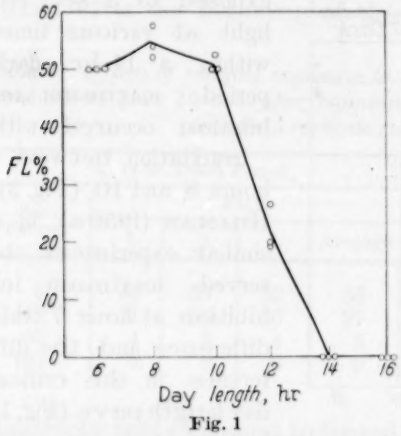


Fig. 1

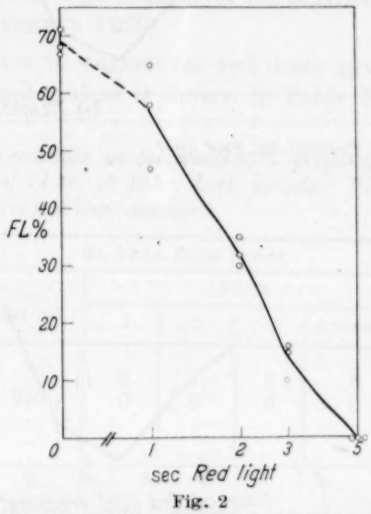


Fig. 2

Fig. 1. Critical day length for flowering. Each point represents the FL % of one culture

Fig. 2. Effects of various doses of red light on flowering. Irradiations given at hour 9 of a 14-hr. dark period. Each point represents the FL % of one culture

Effects of red light. Fig. 2 shows the response to various red light exposures given 9 hr. after the beginning of a 14-hr. dark period. Essentially full inhibition of flowering resulted from 5-sec. irradiations.

Facilities were not available for adequate determination of absolute energies of red and far-red treatments.

HILLMAN (1959a) has reported that this inhibitory effect of red light in *L. perpusilla* cannot, contrary to expectation, be reversed by subsequent exposure to far-red irradiation, while far-red light given alone can, in fact, inhibit flowering. Both of these observations were confirmed in the present study (Table 1). Similar phenomena have been observed in the short day plant *Pharbitis nil* (NAKAYAMA 1958; NAKAYAMA et al. 1960).

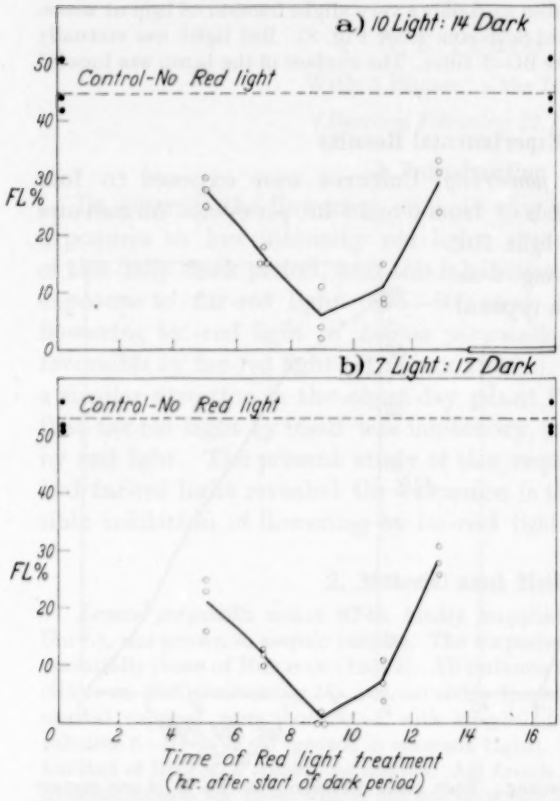


Fig. 3. Effects of a 3-sec. exposure to red light given at various times during the dark period. Upper curve: 14-hr. dark period; lower curve: 17-hr. dark period. Each point represents the FL % of one culture

When cultures were exposed to 3 sec. red light at various times within a 14-hr. dark period, maximum inhibition occured with irradiation between hours 8 and 10 (Fig. 3). HILLMAN (1959a), in a similar experiment, observed maximum inhibition at hour 7; this difference and the difference in the critical day length curve (Fig. 1) have not been satisfactorily explained. Also shown in Fig. 3 are the results of a similar experiment with red light breaks given during a 17-hr. dark period; once again maximum inhibition occurred approximately 9 hr. after the beginning of the dark period. Thus, the maximum sensitivity to red light was found not in the middle of the dark period but, rather, at a definite number of hours after the beginning of the dark period. SALISBURY and BONNER (1956) reported that the maximum sensitivity to red light in the short day plant *Xanthium pennyslvanicum* also falls at a specific time after the beginning of the dark period regardless of the length

Table 1. *Effects of red and far-red light on flowering of L. perpusilla. Irradiations given 9 hr. after beginning of 14 hr. dark periods. FL% given for 3 replicate cultures and their average*

Irradiations	FL %			
	1	2	3	Average
None-Control	17	14	12	14
3 sec. red	0	0	0	0
3 sec. red + 20 sec. far-red	0	0	0	0
3 sec. red + 60 sec. far-red	0	0	0	0
3 sec. red + 200 sec. far-red . . .	0	0	0	0
60 sec. far-red	2	0	6	3

of the dark period. In the cabbage moth *Pieris brassicae*, on the other hand, light breaks have a maximum inhibitory effect on diapause (a short day phenomenon) at a given number of hours after the beginning of the *light* period (BÜNNING und JOERRENS 1959).

Effects of far-red light. The response to various far-red doses given 10 min after the beginning of the dark period is shown in Table 2 A.

Table 2. *Effects of varying exposures to far-red light on flowering of L. perpusilla. Irradiations given 10 min. after beginning of 14-hr. or 12-hr. dark periods. FL% given for 3 replicate cultures and their average*

A. 14-hr. Dark Period					B. 12-hr. Dark Period				
Sec. Far-red	FL %				Sec. Far-red	FL %			
	1	2	3	Average		1	2	3	Average
0	60	57	52	56	0	8	7	8	8
18	31	20	30	27	240	0	0	0	0
60	4	8	4	5					
180	0	0	0	0					

Relatively brief exposures to far-red light inhibited flowering completely, while exposure to as much as 60 sec red light was without effect at the beginning of the dark period. It has been reported (BORTHWICK 1959; DOWNS 1959) that some, but not all, short day plants are promoted in their flowering by far-red given at the beginning of a subinductive night (*i. e.*, a dark period shorter than the critical night length). However, in *L. perpusilla* far-red light fully inhibited the low FL% obtained by exposure to cycles of 12 hr. light — 12 hr. dark (Table 2 B). Inhibition of flowering by far-red given in the early hours of the dark period has also been observed in *Pharbitis nil* (NAKAYAMA 1958; NAKAYAMA et al. 1960), and this inhibition proved to be reversible by subsequent exposure to red light. Similarly, the far-red induced inhibition of flowering in *L. perpusilla* was reversible by red light (Fig. 4).

Fig. 5 illustrates the effects of 60-sec. exposures to far-red light given at various times within a 14-hr. dark period. Irradiations in the early and middle hours of the dark period were strongly inhibitory, but the inhibition decreased with irradiation nearer the end of the "night". These results are in close agreement with those obtained by NAKAYAMA (1958) with *Pharbitis*.

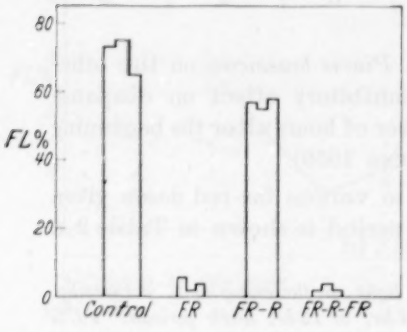


Fig. 4

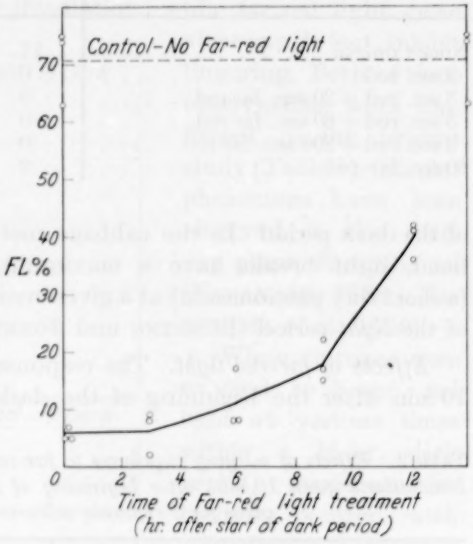


Fig. 5

Fig. 4. Reversibility of far-red light-induced inhibition of flowering. FR: 90 sec. far-red; R: 200 sec red light. Irradiations started 10 min. after beginning of 14-hr. dark period. Divisions of bars represent the FL % of replicate cultures

Fig. 5. Effects of a 60-sec. exposure to far-red light given at various times during a 14-hr. dark period. Each point represents the FL % of one culture

4. Discussion

These results serve to extend the observations of HILLMAN (1958, 1959a, 1959b, 1960) in characterizing the photoperiodic properties of *L. perpusilla* 6746. From a strictly methodological point of view, *Lemna* is exceptionally suitable for quantitative studies on the photoperiodic control of flowering; further, the papers of HILLMAN demonstrate the singular success with which preliminary studies on chemical mechanism in the flowering of *Lemnaceae* have been met.

As BORTHWICK (1959, pp. 286—287) has suggested, it seems likely that at least two steps individually influenced by the red, far-red reversible photoreaction are included in the dark reactions of some species. While the red light-induced inhibition of flowering in *L. perpusilla* and *Pharbitis nil* is not reversible by far-red light, analogy with other species would suggest that this inhibition is phytochrome-mediated (BORTHWICK and HENDRICKS 1960). The fact that the time of maximum

sensitivity to red light falls at a set number of hours after the beginning of the dark period (Fig. 3), corresponding to the situation in *Xanthium* (SALISBURY and BONNER 1956), is particularly suggestive. However, the far-red light-induced inhibition in *Lemna* and *Pharbitis*, being red light-reversible, is also phytochrome-mediated. This seems more likely than the possibility that two separate photoreversible pigments are involved. The action spectra for the photocontrol of flowering in *Pharbitis* reported by NAKAYAMA et al. (1960) resemble closely the spectra obtained with many other plants.

The far-red-sensitive reaction early in the dark period may also occur in certain long day plants. In such cases, far-red light should *promote* flowering as does red light. KANDELER (1956) reported that far-red light promoted flowering in the long day plant *Lemna gibba* when given in the early or middle portions of a noninductive (long) night. Far-red light was less effective in the later hours of the dark period. Unfortunately, this effect was not tested for reversibility by red light. It has also been reported (BORTHWICK 1959) that far-red light at the beginning of a long dark period will promote flowering in *Hyoscyamus niger* and *Anethum graveolens*. It is interesting that the far-red-sensitive reaction may occur in both of the known photoperiodic species of *Lemna*: the short day plant *L. perpusilla* and the long day plant *L. gibba*.

Summary

This study concerns the effects of red and far-red light on flowering in the short day plant *Lemna perpusilla* 6746. The critical day length for maximum flowering was found to be 10 hours. Exposure to red light near the middle of the dark period inhibited flowering, and the time of maximum sensitivity to red light occurred 9 hours after the beginning of dark periods of either 14 or 17 hours. The inhibition by red light was not reversible by far-red light, which also inhibited flowering, especially when given early in the dark period. Flowering inhibited by exposure to far-red light at the beginning of the dark period could be restored by subsequent exposure to red light. It appears that two photoperiodic partial processes in some plants may be controlled by the red, far-red reversible pigment system.

I am indebted to Prof. Dr. E. BÜNNING for his constant encouragement and to the entire staff of his institute for their hospitality. Dr. W. S. HILLMAN gave helpful advice at the beginning of the project and during its progress. This work was supported by a National Science Foundation Postdoctoral Fellowship.

Literature Cited

BORTHWICK, H. A.: Photoperiodic control of flowering. In: Photoperiodism and related phenomena in plants and animals, R. B. WITHROW edit. Washington: American Association for the Advancement of Science (Publication No. 55) 1959.

Borthwick, H. A., and S. B. Hendricks: Photoperiodism in plants. Science **132**, 1223—1228 (1960).

Bünning, E., u. G. Joerrens: Versuche zur photoperiodischen Diapause-Induktion bei *Pieris brassicae* L. Naturwissenschaften **46**, 518—519 (1959).

Downs, R. J.: Photocontrol of vegetative growth. In: Photoperiodism and related phenomena in plants and animals, R. B. Withrow edit. Washington: American Association for the Advancement of Science (Publication No. 55) 1959.

Hillman, W. S.: Photoperiodic control of flowering in *Lemna perpusilla*. Nature (Lond.) **181**, 1275 (1958).

— Experimental control of flowering in *Lemna*. I. General methods. Photoperiodism in *L. perpusilla* 6746. Amer. J. Bot. **46**, 466—473 (1959a).

— Experimental control of flowering in *Lemna*. II. Some effects of medium composition, chelating agents and high temperatures on flowering in *L. perpusilla* 6746. Amer. J. Bot. **46**, 489—495 (1959b).

— Photoperiodism, chelating agents and flowering of *Lemna perpusilla* and *L. gibba* in aseptic culture. In: Light and life, W. D. McElroy and B. Glass edit. Baltimore: Johns Hopkins Univ. Press 1960.

Hutner, S. H.: Comparative physiology of heterotrophic growth in plants. In: Growth and differentiation in plants, W. E. Loomis edit. Ames: Iowa State College Press 1953.

Kandeler, R.: Über die Blütenbildung bei *Lemna gibba* L. II. Das Wirkungsspektrum von blühförderndem Schwachlicht. Z. Bot. **44**, 153—174 (1956).

Mohr, H., u. G. Schoser: Eine Interferenzfilter-Monochromatoranlage für photobiologische Zwecke. Planta (Berl.) **53**, 1—17 (1959).

Nakayama, S.: Studies on the dark process in the photoperiodic response of *Pharbitis* seedlings. Sci. Rep. Tohoku Univ., Ser. Biol. **26**, 137—183 (1958).

— H. A. Borthwick and S. B. Hendricks: Failure of photoreversible control of flowering in *Pharbitis nil*. Bot. Gaz. **121**, 237—243 (1960).

Salisbury, F. B., and J. Bonner: The reactions of the photoinductive dark period. Plant Physiol. **31**, 141—147 (1956).

Dr. W. K. Purves,
Department of Botany, University of California,
Los Angeles 24, California U.S.A.

Planta 56, 691—699 (1961)

Aus dem Max Planck-Institut für Züchtungsforschung,
Erwin Baur-Institut, Köln-Vogelsang

UNTERSUCHUNGEN ÜBER DIE URSACHEN DER PEROXYDASEVERMEHRUNG IN GESTÖRTEN *PHASEOLUS*-ARTBASTARDEN *

Von

PAUL SCHWARZE

(Eingegangen am 9. März 1961)

Zu den auffälligsten Merkmalen der gestörten *Phaseolus*-Artbastarde gehört eine stark gesteigerte Peroxydasereaktion (GEERTS 1949, SCHWARZE 1954), ein Merkmal, das auch bei anderen Bastarden mit anomaler Entwicklung, z. B. gehemmten *Epilobium*-Bastarden (ROSS 1942), vorkommt. Die Peroxydasereaktion ist bei den gestörten *Phaseolus*-Bastarden mindestens doppelt so stark, sie kann aber den drei- bis vierfachen Wert normaler Pflanzen erreichen. Da zu vermuten war, daß die abnorm hohe Peroxydasereaktion mit anderen Merkmalen, z. B. dem gehemmten Wuchs und den Chlorophylldefekten der gestörten Bastarde, in ursächlichem Zusammenhang steht, wurde das Phänomen näher untersucht. Zunächst wurde die Frage geprüft, ob die gesteigerte Peroxydasereaktion auf der Anwesenheit eines Stimulators oder der Vermehrung der Peroxydasemenge beruht. HERZMANN (1958) hat zeigen können, daß die peroxydatische Oxydation von Dioxyphenylalanin durch bestimmte phenolische Stoffe — Brenzkatechin, Ferula-, Kaffee- und Chlorogensäure — beschleunigt wird. Da die wirksamste Verbindung, die Chlorogensäure, ein Bestandteil des *Phaseolus*-Blattes ist, mußte geprüft werden, ob die von uns zur Peroxydasebestimmung benutzte Indophenolmethode auf derartige Stoffe anspricht. Die Versuche lassen einen solchen Effekt nicht erkennen, es konnten vielmehr indirekte Beweise dafür erbracht werden, daß die Peroxydasemenge vermehrt ist (SCHWARZE 1960b). Dieser Befund wiederum warf die Frage auf, wie die Vermehrung der Peroxydase im gestörten Bastard zustande kommt.

Die Peroxydase ist wie viele Enzyme ein heterogenes, aus Apo- und Coenzym zusammengesetztes Gebilde. Als Coenzym wurde das mit der Porphyrinkomponente des roten Blutfarbstoffes identische und mit der Chlorophyllvorstufe Protoporphyrin IX verwandte Hämatin erkannt (KUHN u. Mitarb. 1931, KEILIN u. MANN 1937). Das Apoenzym ist ein im Vergleich zu anderen Apoenzymen sehr niedrigmolekulares Eiweiß. Für das Molekulargewicht der Peroxydase, für dessen Größenordnung

* Herrn Prof. Dr. W. RUDORF zum 70. Geburtstag gewidmet.

die Eiweißkomponente maßgebend ist, werden Zahlen zwischen 39800 und 44000 angegeben (THEORELL 1942, CECIL u. OGSTON 1951, KEILIN u. HARTREE 1951). Die Apoenzymfunktion ist an eine spezifische Eiweißstruktur gebunden. Wir wissen jedoch noch nicht, ob eine bis in alle Einzelheiten festgelegte Struktur erforderlich ist oder eine gewisse Toleranz besteht und nur bestimmte Strukturmerkmale vorhanden sein müssen. Im letzteren Fall würden alle Eiweiße, die diese Struktureigentümlichkeiten zeigen, die Funktion eines Peroxydaseapoenzyms übernehmen können.

Das Coenzym ist ein Produkt des Porphyrinstoffwechsels, das Apoenzym ein Produkt des Eiweißstoffwechsels. Wieviel Peroxydase sich bilden kann, wird wesentlich davon abhängen, in welchen Mengen die beiden Komponenten im Stoffwechsel anfallen. Der begrenzende Faktor für die Synthese der Peroxydase dürfte, wenn die Bedingungen für eine Zusammenfügung gegeben sind, die in geringerer Menge vorliegende Komponente sein. Um der Ursache für die Vermehrung der Peroxydase näherzukommen, wurde untersucht, welche Komponente frei vorkommt, ob die Produktion des Co- oder des Apoenzyms bei den gestörten Bastarden gefördert ist. Die Möglichkeit dazu geben die Arbeiten von THEORELL u. Mitarb. über die reversible Spaltung der Peroxydase in Co- und Apoenzym (THEORELL 1940, 1947; THEORELL, BERGSTRÖM u. AKESON 1943; THEORELL u. MAEHLY 1950): Behandlung des Enzyms mit Acetonsalzsäure löst das Hämatin vom Eiweiß ab, so daß das Apoenzym frei erhalten werden kann. Wird dieses inaktive Peroxydaseapoenzym in neutraler Pufferlösung mit Hämatin zusammengebracht, vereinigen sich beide Komponenten spontan wieder zu aktivem Enzym.

Material und Methoden

Versuchspflanzen waren normale und gestörte Bastarde der Kreuzung *Phaseolus vulgaris* × *Phaseolus coccineus* mit der erstgenannten Art als Mutter. Für die Versuche wurden ausgewachsene Blätter gleichen Alters von im Gewächshaus angezogenen Pflanzen benutzt. Alle Bastarde hat Herr Prof. Dr. RUDORF freundlicherweise aus seinen für genetische Untersuchungen bestimmten Kreuzungen zur Verfügung gestellt.

Herstellung der Blatthomogenate nach SCHWARZE (1960a).

Peroxydasebestimmung wie in den vorausgehenden Arbeiten nach GUTHRIE (1931), abgeändert nach ROSS (1942) und SCHWARZE (1954).

Herstellung der Coenzymlösung. 5 mg Hämin (Präparat der Firma Merck) wurden in 15 ml n/10 NaOH gelöst, und diese Lösung wurde mit m/15 NaH_2PO_4 auf 50 ml aufgefüllt. p_H der Lösung 7,0.

Herstellung der Apoenzymlösung. 5 mg gereinigte Meerrettichperoxydase „Boehringer" wurden in 1 ml m/15 Phosphatpuffer (p_H 8) gelöst, mit 10 ml Aceton-HCl (0,1% HCl) versetzt und 20 min bei 0° C einwirken gelassen. Der unlösliche Rückstand wurde abzentrifugiert und in gleicher Weise mit Aceton-HCl behandelt. Der abzentrifugierte Niederschlag wurde in 10 ml Natriumbicarbonat (1%ig) gelöst, mit m/15 NaH_2PO_4-Lösung auf p_H 7 gebracht und mit destilliertem Wasser auf 20 ml aufgefüllt.

Nachweis von freiem Peroxydaseapoenzym mit Peroxydasecoenzym. 2,5 ml Coenzymlösung wurden mit 2,5 ml verdünntem Blatthomogenat gemischt und über Nacht bei 0° C stehen gelassen. In Ansatz und Kontrolle (ohne Coenzymzugabe) wurde die Peroxydase bestimmt.

Nachweis von freiem Peroxydasecoenzym mit Peroxydaseapoenzym. 1,0 ml Apoenzymlösung (mit destilliertem Wasser im Verhältnis 1:4 verdünnt) wurde mit 2,5 ml verdünntem Blatthomogenat gemischt und über Nacht bei 0° C stehen gelassen. In Ansatz und Kontrolle (ohne Apoenzym) wurde die Peroxydase bestimmt.

Bestimmung des Gesamthämatins als Pyridinhämochromogen nach Dekock u. Mitarb. (1960).

Ergebnisse

Die Zugabe von Peroxydaseapoenzym, also wirkgruppenfreier Peroxydase, hat bei normalen und gestörten Bastarden nur einen geringen Effekt; in der Mehrzahl der Fälle nimmt die Peroxydasereaktion sehr wenig zu, in einigen Fällen auch etwas ab. Die Zu- und Abnahmen sind gering und liegen innerhalb der Fehlergrenzen der Methode (Tabelle 1).

Tabelle 1. *Einfluß der Zugabe von Peroxydaseapoenzym auf die Peroxydasereaktion von Blatthomogenaten normaler und gestörter Phaseolus-Artbastarde. Änderung der Aktivität = Zu- und Abnahme der Extinktion in Prozent der Extinktion der Kontrolle (Ansatz ohne Apoenzym)*

Normale Bastarde	Änderung der Aktivität in %	Gestörte Bastarde	Änderung der Aktivität in %
Versuch vom 12. 11.	+7	Versuch vom 13. 11.	+8
15. 11.	−6	14. 11.	−8
16. 11.	+4	13. 12.	+8
18. 11.	+7	14. 12.	−8
21. 11.	−5		
22. 11.	+5		
14. 12.	+9		
15. 12.	+9		

Ohne sichere Wirkung ist auch das Peroxydasecoenzym auf die Peroxydasereaktion von Homogenaten normaler Blätter. Die gefundenen Effekte, geringe Zu- und Abnahmen, liegen ebenfalls innerhalb der Fehlergrenzen der Methode. Bei Blatthomogenaten gestörter Bastarde führt der Coenzymzusatz jedoch zu einem bedeutenden Anstieg der Peroxydasereaktion (Tabelle 2).

Den Befunden darf entnommen werden, daß normale und gestörte Bastarde kein freies Coenzym enthalten. Wäre es vorhanden, so müßte nach Apoenzymzugabe Peroxydase entstehen. Blätter normaler Pflanzen können auch kein freies Apoenzym enthalten, da Coenzymzusatz die Peroxydasereaktion des Homogenats unverändert läßt. Der z. T. recht erhebliche Anstieg der Peroxydasereaktion von Blatthomogenaten gestörter Bastarde nach Zugabe von Coenzym spricht aber dafür, daß

Tabelle 2. *Einfluß der Zugabe von Peroxydasecoenzym auf die Peroxydasereaktion von Blatthomogenaten normaler und gestörter Phaseolus-Artbastarde. Änderung der Aktivität = Zu- und Abnahme der Extinktion in Prozent der Kontrolle (Ansatz ohne Coenzym)*

Normale Bastarde	Änderung der Aktivität in %	Gestörte Bastarde	Änderung der Aktivität in %
Versuch vom 10. 10.	+ 2	Versuch vom 24. 10.	+ 55
14. 10.	− 7	26. 10.	+ 14
19. 10.	+ 4	29. 10.	+ 22
25. 10.	+ 7	30. 10.	+ 20
6. 11.	− 6	2. 12.	+ 32
		6. 12.	+ 11
		7. 12.	+ 14
		8. 12.	+ 20

hier freies Apoenzym in größerer Menge vorliegt. Die gestörten Bastarde zeigen also eine ausgesprochene Neigung zur Apoenzymproduktion und der begrenzende Faktor für die Peroxydasebildung muß das im Stoffwechsel anfallende Hämatin sein. Bei den normalen Bastarden sind die Vorgänge der Coenzym- und Apoenzymbildung also offenbar aufeinander abgestimmt, während bei den gestörten Bastarden diese Koordination fehlt.

Um eine Vorstellung von der Hämatinkonzentration im Blatt zu bekommen, wurde das Gesamthämatin bestimmt. Es ergab sich, daß in den Blättern der gestörten Bastarde wesentlich weniger Gesamthämatin als in den Blättern normaler Bastarde enthalten ist (Tabelle 3).

Tabelle 3. *Hämatingehalt in Blättern normaler und gestörter Bastarde*

Normale Bastarde	Hämatingehalt in μMol/kg Frischsubstanz	Gestörte Bastarde	Hämatingehalt in μMol/kg Frischsubstanz
Versuch vom 24. 10.	29,8	Versuch vom 3. 11.	2,5
25. 10.	28,4	3. 11.	2,8

Trotz dieses geringen Gehaltes an Gesamthämatin ist bei den gestörten Bastarden aber mehr Hämatin in Form von Peroxydase festgelegt als bei den normalen Bastarden.

Besprechung der Ergebnisse

In einer früheren Arbeit (SCHWARZE 1954) wurde die gesteigerte Peroxydasereaktion mit der Hemmung der Chlorophyllsynthese, die bei den gestörten Bastarden vorliegt, in Verbindung gebracht. Die prosthetische Gruppe der Peroxydase, das Eisenporphyrin Hämatin, ist nahe

mit dem von GRANICK (1948) als Chlorophyllvorstufe erkannten Protoporphyrin IX verwandt. Wird aus inneren oder äußeren Ursachen die Chlorophyllsynthese gehemmt, so steht mehr Porphyrin für die Synthese anderer Zellporphyrine, u.a. der Peroxydase, zur Verfügung; denn es ist wahrscheinlich, daß die Synthese aller Porphyrine über das Protoporphyrin läuft und die Chloroplasten sowie die anderen Plasmakomponenten das Porphyrin nicht von Grund aus synthetisieren, sondern fertiges Porphyrin aus einer gemeinsamen Quelle schöpfen. In der Tat wird bei den mit Chlorophylldefekten behafteten Bastarden mehr Porphyrin in Form von Hämatin durch die Peroxydase festgelegt als beim normalen Bastard und den Elternarten. Überraschend ist aber zunächst das Ergebnis, daß die gestörten Bastarde nicht nur weniger Chlorophyll, sondern auch weniger Gesamthämatin enthalten, daß also andere Eisenporphyrinverbindungen, wie die Katalase, die Cytochromoxydase und das Cytochrom selbst oder die eine oder andere dieser Verbindungen, auch vermindert sein müssen. Eine Erklärung könnte der Befund geben, daß die gestörten Bastarde gerade das Peroxydaseapoenzym vermehrt produzieren und durch dieses offenbar ein wesentlicher Teil des Hämatins abgefangen wird. Es ist vorstellbar, daß die Steigerung des Oxydationspotentials, die die Zelle dadurch erfährt, neben anderen Stoffwechselprozessen auch die Porphyrinsynthese mittel- oder unmittelbar hemmend beeinflußt. Versuche der letzten Jahre haben gezeigt, daß die Peroxydase im Zusammenwirken mit Mn^{++}-Ionen und bestimmten Phenolen für den Stoffwechsel so bedeutsame Stoffe wie β-Indolylessigsäure, Coenzym I und II, Oxalessigsäure und Ketomalonsäure oxydieren kann (Literatur bei BURRIS 1960).

Für das Verständnis des Phänomens der gesteigerten Peroxydasereaktion war es wichtig, zu klären, wo in der Zelle die Peroxydase lokalisiert ist. Eine größere Anzahl von Versuchen, über die in einer späteren Arbeit berichtet wird, ergab, daß bei normalen und gestörten Bastarden bis zu 90% der Gesamtperoxydase im Grundplasma enthalten sind. Das Mehr an Peroxydase bei den letzteren ist also mindestens zum überwiegenden Teil im Grundplasma lokalisiert. In dieses sind alle Plasmakomponenten eingebettet, es stellt damit die Verbindung zwischen allen anderen Plasmakomponenten her. Stoffe, die in den Partikeln gebildet und von diesen an andere abgegeben werden, müssen das Grundplasma passieren und kommen zwangsläufig mit der darin enthaltenen Peroxydase in Berührung. Je höher die Peroxydasekonzentration im Grundplasma liegt, um so nachhaltiger wird möglicherweise die Beeinflussung des Stoffwechsels durch dieses Enzym sein.

Die gestörten Bastarde enthalten, bezogen auf Frischsubstanz, Trockensubstanz oder Nucleinsäure, weniger Eiweiß als die normalen Bastarde und die Elternarten, und das Verhältnis Eiweiß-N/löslicher N

ist bei ihnen zuungunsten des Eiweißes verschoben (SCHWARZE 1954 und 1960). Dies spricht dafür, daß entweder eine Neigung zum Eiweißabbau besteht oder die Eiweißsynthese erschwert ist, was wiederum bedeuten könnte, daß die Möglichkeit für die Bildung oder die Existenz kleinmolekularer Eiweiße wie des Peroxydaseapoenzyms günstiger ist als für die Bildung oder die Existenz großmolekularer Eiweiße vom Typ des Katalaseapoenzyms (Molekulargewicht 248000). Die feinere Struktur des Peroxydaseapoenzyms ist unbekannt, man kann sich aber vorstellen, daß es sich als Untereinheit in Eiweißen mit höherem Molekulargewicht wiederfindet oder aus denselben Untereinheiten wie diese zusammengesetzt ist. Dieser Gedanke drängt sich schon deshalb auf, weil bei manchen stark chlorophylldefekten Pflanzen der Peroxydasegehalt vermehrt und der Katalasegehalt vermindert ist. Eine solche Beziehung würde auch den unspezifischen Charakter des Phänomens der Peroxydasevermehrung verständlich machen. Während der normalen Blattentwicklung, besonders stark im alternden Blatt, nimmt die Peroxydasereaktion ebenfalls zu, und ein Anstieg ist auch im isolierten verdunkelten Blatt festzustellen (SCHWARZE 1959 bzw. SCHUHMACHER 1928 und SCHWARZE 1954). Der Anstieg im Laufe der Blattalterung beruht, wie experimentell belegt werden konnte, auf einer Zunahme der Enzymmenge (SCHWARZE 1961). Für die Verdunklungsversuche steht der Beweis noch aus, es ist aber wahrscheinlich, daß die gleichen Verhältnisse vorliegen. In allen drei Fällen ist das Phänomen der Peroxydasevermehrung mit dem Eiweißstoffwechsel verknüpft. Bei den gestörten Bastarden dürfte es sich, da die Störungsmerkmale schon auf frühestem Entwicklungsstadium auftreten, um eine Hemmung der Eiweißsynthese handeln. Im alternden Blatt besteht eine Tendenz zum Eiweißabbau, die schon vor dem Einsetzen der Vergilbung zu erkennen ist, und durch einen starken Eiweißabbau ist auch der Stoffwechsel des isolierten verdunkelten Blattes gekennzeichnet. Im letzteren Fall ist eine Synthese vom Hämatin und Peroxydaseapoenzym äußerst unwahrscheinlich, beide Komponenten dürften vielmehr im abbauenden Stoffwechsel, der das verdunkelte Blatt beherrscht, entstehen. Der Abbau von Hämatinproteiden wird sicherlich durch die Spaltung in Hämatin und Eiweiß eingeleitet. Es ist gut vorstellbar, daß sich solches Hämatin mit im abbauenden Eiweißstoffwechsel entstehenden kleinmolekularen Eiweißkörpern, die die Eigenschaften des Peroxydaseapoenzyms besitzen, zur aktiven Peroxydase verbinden. Auf die gleiche Weise könnte auch die Peroxydasevermehrung bei der Blattalterung zustande kommen. Weder Coenzym noch Apoenzym werden neu synthetisiert, sondern es ändert sich infolge Umstimmung des Eiweißstoffwechsels der Bestand an Apoenzymen, und frei gewordenes Coenzym wird neu verteilt.

Der Peroxydasevermehrung im gestörten Bastard liegt sicherlich ein anderer Mechanismus zugrunde. Zu den Störungsmerkmalen der

Bastarde gehören Chloroplastendefekte, mit denen die Hemmung der Eiweißsynthese in folgender Weise verknüpft sein könnte: Die Chloroplasten sind Attraktionszentren und Ablagerungsorte für Eiweiß (oder Aminosäuren, die in den Chloroplasten zum Eiweiß zusammengefügt werden), Porphyrine (hauptsächlich als Chlorophyll, wahrscheinlich auch Katalase und Cytochromoxydase) und eine Reihe anderer Stoffe. In normal entwickelten Chloroplasten ist ein wesentlicher Teil des Zelleiweißes und die Hauptmenge des von der Zelle produzierten Porphyrins deponiert. Das Fehlen dieser Ablagerungsmöglichkeit durch Ausfall eines Eiweiß bildenden und Porphyrin verbrauchenden Organells wird sich auf den Stoffwechsel beider Verbindungen und damit auch auf den gesamten Zellstoffwechsel auswirken. Zu diesen Auswirkungen gehört die in dieser Arbeit nachgewiesene vermehrte Bildung von Peroxydaseapoenzym. Diese wiederum bewirkt, daß mehr Porphyrin — in Form von Hämatin — als Peroxydase festgelegt wird als in Zellen mit normaler Chloroplastenentwicklung, was um so leichter möglich ist, als mit den Chloroplasten auch die Stätten des größten Porphyrinverbrauches ausfallen.

Es gibt aber auch andere Möglichkeiten für die Verknüpfung der verschiedenen Phänomene, z. B. könnten Störungen des Eiweißstoffwechsels oder des Porphyrinstoffwechsels einschließlich des Überganges von Protoporphyrin in Chlorophyll Ursachen der Chloroplastendefekte sein. Die normale Entwicklung der Chloroplasten ist an viele Voraussetzungen gebunden, entsprechend groß wird die Zahl der Möglichkeiten für die Störung dieser normalen Entwicklung sein.

Das wesentliche Ergebnis der vorliegenden Arbeit ist der Befund, daß die gestörten Bastarde mehr Peroxydaseapoenzym produzieren als die normalen Bastarde. Inwieweit die daran anknüpfenden Erklärungsversuche für die vermehrte Peroxydasebildung zutreffen, werden weitere Untersuchungen zu zeigen haben. Da Änderungen des Enzymbestandes der Zelle — Zu- und Abnahmen einzelner Enzyme — eine Rolle in der normalen Entwicklung der Pflanze spielen, sind von solchen Untersuchungen Einblicke in wichtige entwicklungsphysiologische Grundprozesse zu erwarten.

Eine Diskussion der Befunde dieser Arbeit in Verbindung mit den Ergebnissen genetischer Untersuchungen von Rudorf (1954 und unveröffentlichte Versuche) ist für eine spätere Veröffentlichung vorgesehen.

Zusammenfassung

Um Aufschluß darüber zu erlangen, wie die Vermehrung der Peroxydase in gestörten *Phaseolus*-Artbastarden *(Phaseolus vulgaris* × *Phaseolus coccineus)* zustande kommt, wurde die Fähigkeit der Bastarde zur Bildung von Peroxydaseapoenzym und Peroxydasecoenzym (= Hämatin) geprüft. Diese Prüfung wurde auf Grund des Befundes von

THEORELL u. Mitarb., daß sich Peroxydaseapo- und Peroxydasecoenzym bei p_H-Werten um 7 spontan zur aktiven Peroxydase vereinigen, vorgenommen.

Zusatz von Peroxydaseapoenzym zu Blatthomogenaten normaler und gestörter Pflanzen beeinflußt in keinem Fall die Peroxydasereaktion. Coenzymzusatz bleibt wirkungslos bei normalen, führt aber zu einem starken Anstieg der Peroxydasereaktion bei gestörten Bastarden. Wie der Chlorophyllgehalt ist auch der Gesamthämatingehalt bei den gestörten Bastarden stark vermindert.

Aus den Befunden darf geschlossen werden, daß normale und gestörte Bastarde kein freies Hämatin enthalten und daß freies Apoenzym den normalen Bastarden fehlt, bei den gestörten Bastarden aber in größerer Menge vorhanden ist. Bei den normalen Bastarden sind Apo- und Coenzymproduktion aufeinander abgestimmt, während bei den gestörten Bastarden diese Koordination fehlt. Der begrenzende Faktor für die Peroxydasebildung ist bei den letzteren das Coenzym. Trotz des niedrigeren Gesamthämatingehaltes ist wesentlich mehr Hämatin in Form von Peroxydase festgelegt als bei den normalen Bastarden.

Die Ergebnisse werden mit den Befunden über die Peroxydasevermehrung im alternden und im verdunkelten Blatt in Verbindung gebracht und diskutiert.

Fräulein P. v. RÖMER danke ich für die sorgfältige Ausführung der Versuche.

Literatur

BURRIS, R. H.: Hydroperoxidases (peroxidases and catalases). In Handbuch der Pflanzenphysiologie, herausgegeben von W. RUHLAND, Bd. XII, Teil I, S. 365 bis 400. Berlin-Göttingen-Heidelberg: Springer 1960.

CECIL, R., and A. G. OGSTON: Determination of sedimentation and diffusion constants of horseradish peroxidase. Biochem. J. **49**, 105—106 (1951).

DEKOCK, P. C., K. COMMISIONG, V. C. FARMER and R. H. E. INKSON: Interrelationships of catalase, peroxidase, hematin, and chlorophyll. Plant Physiol. **35**, 599—604 (1960).

GEERTS, S. J.: Orienterend onderzoek over de reuzen- en dwergplanten in F_1 en volgende generaties van *Phaseolus vulgaris* L. × *Phaseolus multiflorus* Lam. Groningen-Batavia: J. B. Wolter 1949.

GRANICK, S.: Protoporphyrin 9 as a precursor of chlorophyll. J. biol. Chem. **172**, 717—727 (1948).

GUTHRIE, J. D.: A method for the determination of peroxidase activity. J. Amer. chem. Soc. **53**, 242 (1931).

HERZMANN, H.: Biochemische Untersuchungen über den Stoffwechsel gesunder und brennfleckenkranker Bohnen. II. Untersuchungen über sekundäre Pflanzenstoffe. Phytopath. Z. **34**, 109—136 (1958).

KEILIN, D., and T. MANN: On the haematin compound of peroxidase. Proc. roy. Soc. B **122**, 119—133 (1937).

—, and E. F. HARTREE: Purification of horseradish peroxidase and comparison of its properties with those of catalase and methemoglobin. Biochem. J. **49**, 88—104 (1951).

Kuhn, R., D. B. Hand u. M. Florkin: Über die Natur der Peroxydase. Hoppe-Seylers Z. physiol. Chem. **201**, 255—266 (1931).

Ross, H.: Über die Verschiedenheiten des dissimilatorischen Stoffwechsels in reziproken *Epilobium*-Bastarden und die physiologisch genetische Ursache der reziproken Unterschiede. III. Über die jährlichen Variationen der Peroxydaseaktivität bei Epilobium hirsutum und die Unterschiede bei den Sippen. Planta (Berl.) **33**, 161—184 (1942).

Rudorf, W.: Neue Beobachtungen an Bastarden von *Phaseolus vulgaris* L. × *Phaseolus multiflorus* Lam. und *Ph. multiflorus* × *Ph. vulgaris*. Caryologia (Pisa) Suppl. **6**, 844—845 (1954).

Schuhmacher, W.: Ein Beitrag zur Kenntnis des Stoffwechsels panaschierter Pflanzen. Planta (Berl.) **5**, 161—231 (1928).

Schwarze, P.: Beziehungen zwischen Peroxydasereaktion, Eiweißspiegel und Chlorophyllbildung. Planta (Berl.) **44**, 491—502 (1954).

— Änderungen der Peroxydase- und Katalasereaktion des Blattes während der Entwicklung. Planta (Berl.) **53**, 670—672 (1959).

— Über die Fraktionierung des Protoplasmas von *Phaseolus*-Arten und *Phaseolus*-Artbastarden. Planta (Berl.) **55**, 451—460 (1960a).

— Über die gesteigerte Peroxydaseaktivität in gestörten *Phaseolus*-Artbastarden. Planta (Berl.) **55**, 630—636 (1960b).

— Untersuchungen über die Peroxydasevermehrung im alternden Blatt. Veröffentlichung in Vorbereitung, 1961.

Theorell, H.: Reversible Spaltung einer Peroxydase. Ark. Kemi. Mineral. Geol. B **14**, No 20, 1—3 (1940).

— The preparation and some properties of crystalline horseradish peroxidase. Ark. Kemi. Mineral. Geol. A **16**, No 2, 1—11 (1942).

— Heme-linked groups and mode of action of some hemoproteins. Advanc. Enzymol. **7**, 265—303 (1947).

— S. Bergström and A. Akeson: On the combination of the protein with various hemins. Ark. Kemi, Mineral. Geol. A **16**, No 13, 1—8 (1943).

—, and A. C. Maehly: Untersuchungen an künstlichen Peroxydasen. Acta chem. scand. **4**, 422—434 (1950).

Dr. P. Schwarze,
Max Planck-Institut für Züchtungsforschung
(Erwin Baur-Institut) Köln-Vogelsang

Planta 56, 700—711 (1961)

Aus dem Botanischen Institut der Universität Tübingen

INITIATION OF RHYTHMICAL PETAL MOVEMENTS IN *KALANCHOE BLOSSFELDIANA* BY TRANSFER FROM CONTINUOUS DARKNESS TO CONTINUOUS LIGHT OR VICE VERSA

By

ANAND KARVÉ, WOLFGANG ENGELMANN and GUSTAV SCHOSER

With 12 Figures in the Text

(Received March 16, 1961)

I. Introduction

The rhythmical opening and closing movements of the flowers of *Kalanchoe blossfeldiana* (Crassulaceae) have been studied most often under conditions of alternating light and darkness (e.g. BÜNSOW 1953b). But in this case the analysis of this phenomenon is complicated by the fact that each change (i.e. each transfer from light to darkness and

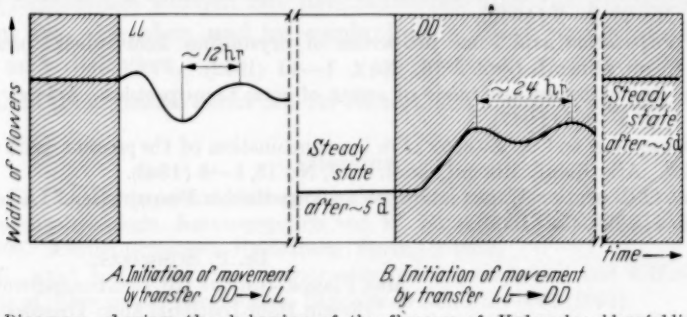


Fig. 1. Diagram showing the behavior of the flowers of *Kalanchoe blossfeldiana* after transfer from *DD* to *LL* and vice versa

darkness to light) evokes a rhythmical oscillation, giving thus a combined result. It appeared to be of greater advantage to allow the oscillations to come to a standstill by keeping the flowers under a constant condition (for a duration of at least 5 days) and to start the oscillations again by a simple one time change into the other constant condition. This possibility has already been demonstrated.

Fig. 1 shows the behavior of *Kalanchoe* flowers under these conditions. In constant darkness the flowers are open. If transfered to continuous light[1] they close, showing thereby typical rhythmical movements of the corolla. After a certain time (i.e. 5 days as mentioned above) they reach

[1] Abbreviations used: DD: continuous darkness; LD: conditions of alternating light and darkness; LL: continuous light; d: days; hr: hours.

a steady state. If they are then again transfered to DD, another rhythmical movement is initiated resulting in an ultimate opening of the flowers. ENGELMANN, upon whose investigation (1960) the above diagram has been based, had used only "white" light produced by fluorescent tubes. In the present investigation we have attempted to study the effect of different regions of the visible spectrum upon this phenomenon.

II. Material and methods

Plants of *Kalanchoe blossfeldiana* (Göttingen strain)[1] which were raised from seeds and kept under continuous light (daylight supplemented by fluorescent light during the night) in the greenhouse were used throughout this study. After 18 weeks they were induced to flower by placing them in continuous short day conditions (LD = 9:15 hr). Several weeks before the beginning of the actual experiments the flowering plants were placed at 20° C under LD cycles (12:12 hr).

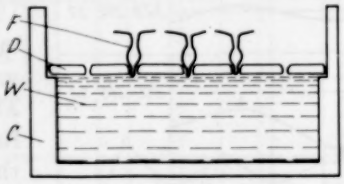


Fig. 2

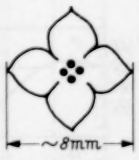


Fig. 3

Fig. 2. A diagrammatic section through the plastic container in which the flowers were arranged for illumination and photographic registration. *F: flowers, D: plastic disc floating on distilled water* (*W*) and *C: plastic container*

Fig. 3. A diagrammatic view of a single flower of *Kalanchoe blossfeldiana* viewed from above. All the values depicting the width of the flower are measured as the distance between the tips of two opposite petals and given as divisions of scale of the ocular micrometer with which this was measured. The width "8 mm" in the diagram is the actual width of an average fully open flower

For the purpose of uniform illumination and photographic registration of the petal movement the flowers were cut just below the calyx and mounted into perforations in a plexiglass disc which floated on distilled water within a plastic container (Fig. 2). In this way the flowers came to rest in one plane and any possible effect of the plants on the flowers was obviated. Every three hr the flowers were photographed from above using an electronic flash light provided with the safe light filters of MOHR and SCHOSER (1959). The distance between the tips of the opposite petals was measured with the aid of a binocular microscope from the film (Fig. 3).

The equipment described by MOHR and SCHOSER (1959) was used for the production of monochromatic light. The filters used were transmission interference filters of the Fabry-Pérot type (Glaswerk Schott & Gen., Mainz). All the experiments were carried out at 20° C.

III. Experiments and results

1. Transfer from DD to LL

Whole plants were given continuous white light for two days before being brought into DD for 5 d. Preliminary experiments had shown that this dark period is sufficient to bring the flowers into a steady state („Dunkelstarre", as coined by BÜNSOW), yet not long enough to starve

[1] We are indebted to Dr. B. SCHWEMMLE (Göttingen) for sending us flowering plants for the preliminary investigations.

the plants. The flowers were cut off and placed into the plastic containers about 12 hr before the beginning of the LL so that they could adapt themselves to these conditions. It was also found in preliminary experiments that light of a wavelength of 660 mμ at an intensity of 300 erg·cm^{-2}·sec^{-1} initiated a reasonably good rhythmical movement. We used in the case of other wavelengths such intensities as to give the same number of quanta/cm^2·sec as at 600 mμ (300 erg·cm^{-2}·sec^{-1}).

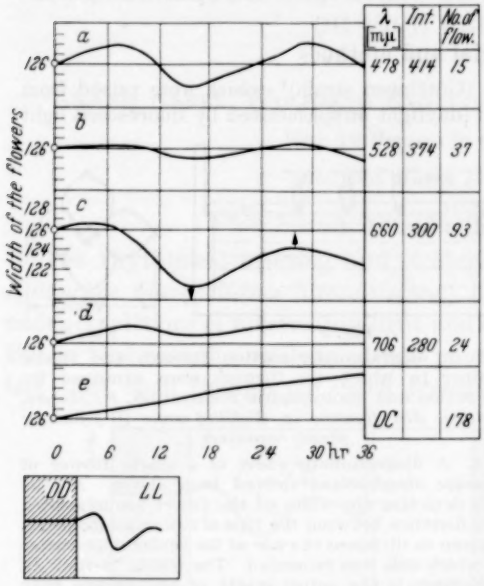


Fig. 4. Some examples of movements of flowers after transfering them from *DD* into *LL* of different wavelengths (see sketch at the lower left hand corner). *Ordinate:* width of flowers in divisions of scale of the ocular micrometer. *Abscissa:* time after beginning of *LL* in hr. The horizontal line represents in each case the width at 0 hr. The table on the right shows from left to right: 1. wavelength in mμ, 2. intensity in erg·cm^{-2}·sec^{-1} and 3. the total number of flowers examined in each case. The graphs are based on the mean values. The graph *e* shows the behavior of flowers kept as *DD* control

Some examples of flower movements under different wavelengths are given in Fig. 4. The effect of blue light was fundamentally the same at all the wavelengths tested (402, 412, 454, 578 and 509 mμ). It is represented by the graph a in Fig. 4: a first maximum appeared between the 6th and the 9th hr after the beginning of the light; and a following minimum appeared between the 15th and the 18th and again a maximal opening at about the 30th hr.

The following wavelengths were used in the yellow, organge and red parts of the spectrum: 568, 589, 603, 660 and 689 mμ. The graph c in Fig. 4, representing the effect at 660 mμ, is characteristic for these regions. The first maximum occuring between the 6th and the 9th hr is similar to that shown by flowers kept in blue light. But this is very small or entirely absent at 660 mμ. The subsequent closing (minimum between the 15th and the 18th hr) and reopening (maximum at about the 27th hr) are similar to those effected by blue light. Since the wavelength 660 mμ was used as a standard control in all the experiments, a sufficient number of individual graphs were available to determine quite exactly the time of the first maximal closure and the following maximal opening. These times are marked with arrows in graph c, Fig. 4. In the case of the

remaining wavelengths the number of flowers was too small (between 15 and 50) and deviations in the individual cases were too great.

A remarkable feature of the red light graph is that the second maximum (after about 27 hr of light) has always a lower value than the first one. This suppression of the second maximum occurs not only at 660 mμ but also at all the other red wavelengths (603, 629, 660 and 689 mμ).

The graph b in Fig. 4 represents the effect of 528 mμ ("safelight"). Finally, to complete the spectrum, neither the wavelength 706 mμ

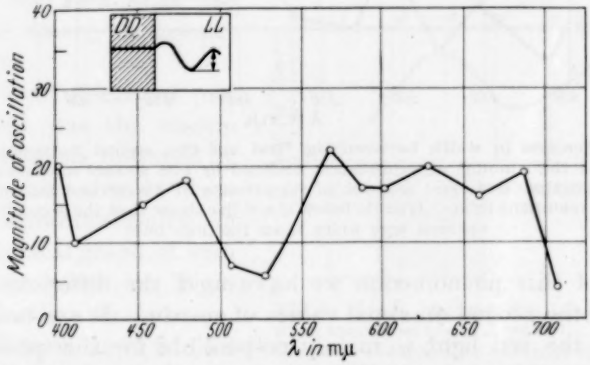


Fig. 5. Effect of different wavelengths on the initiation of a rhythmical movement. Flowers were transfered from *DD* into *LL* (note the sketch in the top left hand corner). *Ordinate:* difference between the width at the first maximal closure and that at the following maximal opening. *Abscissa:* wavelengths in mμ

(Fig. 4, graph d) nor the far red region is able to initiate a pronounced rhythmical movement of the petals. It can only be said that the gradual opening of the flowers which can be observed in the case of DD control (Fig. 4, graph e) appears to be suppressed to a certain extent in this light. The gradual opening shown by flowers kept as DD control is due to the fact that relatively young flowers were used, which give a better response than the older ones. These young flowers show on the one hand a slight amount of growth and on the other hand also an actual opening to a certain extent, during DD.

Fig. 5 shows the effects of the different wavelengths on the initiation of rhythmical movement. The difference between the width at the first maximal closure and that at the following maximal opening has been used as a measure of the induced motion. It can clearly be seen that the blue, orange and the red parts of the spectrum initiate a good movement whereas the green as well as the far red have little or no effect at all.

It has already been mentioned that the flowers show a tendency to close their corollas in LL (white light, Fig. 1), and mention has also been made of the fact that the second maximum (at about the 27th hr

of LL) is suppressed in the case of certain wavelengths of red. Fig. 6 shows the amount of suppression suffered by the second maximum. As

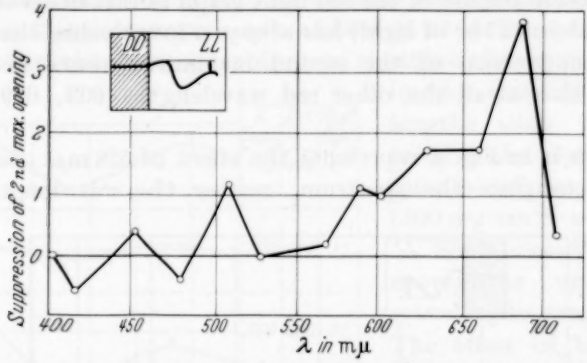


Fig. 6. The difference in width between the first and the second maximal opening of flowers, showing the amount of suppression suffered by the second maximal opening in different wavelengths. *Ordinate:* amount of suppression of the second maximal opening. *Abscissa:* wavelengths in mμ. (Points below the 0-line show that the second maximal opening was wider than the first one)

a measure of this phenomenon we have used the difference between the first and the second maximal values of opening. It can be seen very clearly that the red light is mainly responsible for this phenomenon.

2. *Transfer from LL to DD*

Entire inflorescences cut off from the plants and kept in flasks containing a 0.1 M cane sugar solution were illuminated from above with

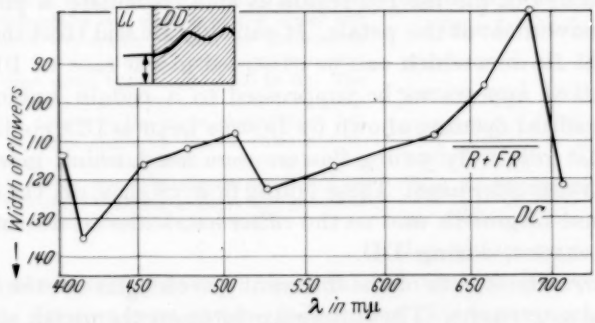


Fig. 7. Width of flowers kept for 5 days in *LL* of different wavelengths (see sketch top left). *Ordinate:* width of flowers in divisions of scale of the ocular micrometer. *Abscissa:* wavelength in mμ. *DC:* width of flowers kept for 5 days in *DD*. *R + FR:* width of flowers kept for 5 d in simultaneous *LL* of red (660 mμ, 300 erg · cm^{-2} · sec^{-1}) and far red (745 mμ, 700 erg · cm^{-2} · sec^{-1})

different qualities of light. Here again equal quantum intensities at all the wavelengths were used (the intensity at 660 mμ being 300 erg · cm^{-2} · sec^{-1}). After 4.5 d the flowers were cut just below the calyx and

arranged in the plastic containers as previously described. 12 hr later they were brought into DD, and their behavior was studied.

According to Fig. 1 the flowers should have all closed by the end of the 5 d of illumination; and they did show in fact a width which was smaller than that of flowers kept for 5 d in DD. But this closure due to LL showed quite different values at different wavelengths. Red light brings about a maximal closure, as can be seen in Fig. 7 which shows the relative width of the flowers after 5 d LL of various wavelengths. The ordinate has been drawn intentionally the other way round in order to stress the fact that the greater the *closure*, the greater is the *effect*.

The next object of our observations was the nature of the movement initiated by DD. This has already been shown diagrammatically in Fig. 1. A typical graph of such a movement is seen in Fig. 8 which shows the average movement of flowers kept for 5 d under LL at 454 mμ and then transfered into DD. The behavior of flowers coming into DD from other wavelengths was fundamentally similar. Immediately after the onset of DD the flowers start opening. The first opening reaches a maximal width after about 18 hr. The following closing and reopening of the corollas are of a typical rhythmical nature having their respective maxima about 12 hr apart from each other. The amplitudes of the oscillations were in general greater in this series of experiments than in the one described under 1.

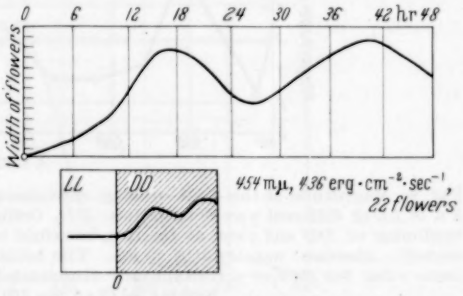


Fig. 8. Graph showing the behavior of flowers when transfered from *LL* into *DD*. *LL* was in this case blue (454 mμ) at an intensity of 436 erg · cm^{-2} · sec^{-1}. A total number of 22 flowers was used in this case. *Ordinate:* width of flowers. *Abscissa:* hr after the beginning of *DD*

Fig. 9 shows the magnitude of the first opening movement (i.e. the difference between the width at the beginning of DD and the width at the first maximum). If this graph is compared with that in Fig. 7 it is apparent that the closure of the flowers at the end of 5 d LL and the first opening in DD are controlled by the same factors, namely, by the blue and the red regions of the spectrum, and in both these phenomena the effect of red light is greater than that of blue. The effect of the red light (660 mμ) is considerably reduced if far red (745 mμ) is provided simultaneously.

The action spectrum of the rhythmical movement differs, however, from the one described above. The difference between the width at the first maximal closing and that at the following maximal opening gives

an impression of the magnitude of the oscillations as shown in Fig. 10. It can be seen that although the same two regions, namely, the blue and the red are responsible for the initiation of a *rhythmical* motion, the

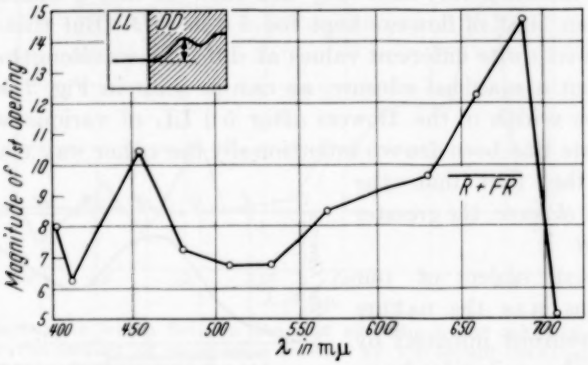


Fig. 9. Magnitude of the first opening movement of flowers after being transfered from 5 d of *LL* of different wavelengths into *DD*. *Ordinate:* difference between the width at the beginning of *DD* and that at the first maximal opening (see sketch in the top left hand corner). *Abscissa:* wavelengths in mμ. The horizontal line designated *R* + *FR* shows the same value for flowers simultaneously illuminated with red (660 mμ, 300 erg·cm^{-2}·sec^{-1}) and far red (745 mμ, 700 erg·cm^{-2}·sec^{-1})

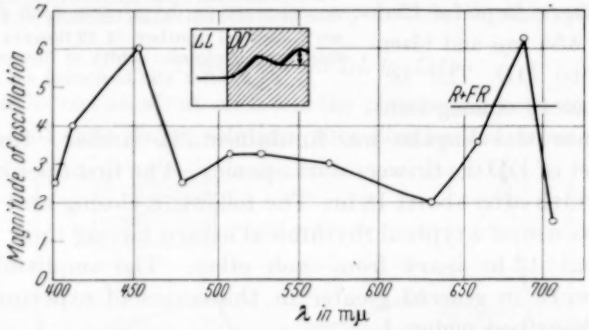


Fig. 10. Magnitude of oscillations induced by a transfer from *LL* of different wavelengths to *DD*. This value is given by the difference of widths between the first maximal closure and the subsequent maximal opening (note the sketch). *Ordinate:* magnitude of oscillations in divisions of scale of the ocular micrometer. *Abscissa:* wavelengths in mμ. The horizontal line designated *R* + *FR* shows the value for flowers simultaneously exposed to irradiation at 660 mμ (300 erg·cm^{-2}·sec^{-1}) and 745 mμ (700 erg·cm^{-2}·sec^{-1})

effect of the blue region is almost as great as that of the red one. In this case the effect of the red light (660 mμ) is not reduced by a simultaneous far red (745 mμ) irradiation.

IV. Discussion

After having studied the results given in the Figs. 5—10 it becomes apparent that we have here two different sets of graphs, namely, one

showing about an equal effect in the blue and the red regions and another where the effect of red light is considerably greater than that of the blue. This would seem to indicate that there are two different pigment systems participating: the chlorophylls and phytochrome.

The absorption spectrum of a mixture of carotinoids and chlorophylls (ether extract) from the flowers of *Kalanchoe blossfeldiana* was similar to that of these pigments from any other plant. (For a comparison we used the absorption spectrum of the ether extract of leaves of *Tulipa gesneriana* from M. SHAW and MCLACHLAN, 1954, reproduced in

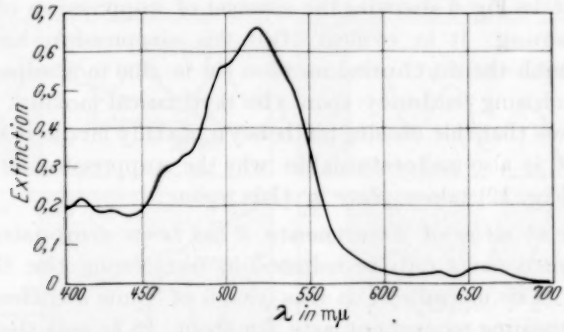


Fig. 11. Absorption spectrum of anthocyanin from corollas of the flowers of *Kalanchoe blossfeldiana*. Extraction with propanol: HCl: H_2O (25:1:74) (after ZIMMER, unpublished). *Ordinate:* extinction. *Abscissa:* wavelengths in mμ

„Handbuch der Pflanzenphysiologie"). We can therefore safely assume that the chlorophylls occuring in the flowers are the usual normal mixture of chlorophyll a and b.

The corollas of the *Kalanchoe* flowers contain in addition to these pigments also a red coloured anthocyanin, the absorption spectrum of which is given in Fig. 11 (after ZIMMER, unpublished). It shows that in addition to a high absorption in the green and yellow regions there is also a considerably high absorption in blue. The absorption in red is in comparison to these rather small.

Let us now go back to the results described under III 1, i.e. when the flowers were transfered from DD to LL. Here we have described two phenomena; the initiation of a rhythmical movement (Fig. 5) and the suppression of the second maximum (Fig. 6). The former is clearly an effect produced by light absorbed by chlorophylls. The magnitude of oscillations in blue light is almost as great as that in red. The slightly lower effect of the blue light may be due to the fact that a small amount of the blue light is absorbed by the anthocyanin (compare absorption spectrum, Fig. 11). The action spectrum for the suppression of the second maximal opening (Fig. 6) could be on the other hand an effect of light absorbed by phytochrome. There is practically no suppression

of the second maximum in blue light. The slight suppression observed at the wavelength 509 mμ is obviously due to the red fluorescent light, which is exhibited by the flowers at this wavelength.

The graph in Fig. 7 showing the width of the flowers after 5 days of LL demonstrates a very high effect of red light. That this effect could be due to light absorbed by phytochrome may be seen from the fact that far red light given simultaneously with the red reduces the high effect in red to that of the blue. It has already been mentioned that in this case the higher effect means a greater closure. Note the similarity of this graph to that in Fig. 6 showing the amount of suppression of the second maximal opening. It is evident that this suppression has no direct connection with the rhythmical motion but is due to a superposition of the general closing tendency upon the rhythmical motion. The graph in Fig. 7 shows that this closing tendency is mainly invoked by red light. And hence it is also understandable why the suppression of the second maximum (Fig. 12) takes place in this region.

In the next series of experiments it has been demonstrated that a rhythmical movement can be induced by transfering the flowers from LL to DD. The movement in this case is of quite a different nature: 1. the first opening movement lasts for about 18 hr and the magnitude of the movement ist also much greater; 2. there is a general tendency of opening (dark effect) and 3. the amplitude of oscillations is in general greater.

The magnitude of the first opening movements seems to depend upon the width at the end of LL. Those flowers which were strongly closed also show a strong opening movement as is shown by the flowers kept in red LL before being transfered to DD.

The rhythmical movement which sets in after this initial opening appears to be an effect of light absorbed by chlorophyll (Fig. 10). That the phytochrome is not responsible for this effect is demonstrated by the fact that the combined simultaneous radiation of red (660 mμ) and far red (745 mμ) has even a greater effect than the red light (660 mμ) alone. Those flowers which were closed at the end of the LL show a general tendency to open during DD, thus giving again a superimposed graph (see Fig. 12b). After 5 days of DD movements come to a standstill and all the flowers show the same width.

From this investigation several new questions arise, the answers to which might be of fundamental interest. One of these, for instance, concerns the organ which actually absorbs the light and induces the phenomena discussed above. It might be worth while cutting the calyx and seeing if the corolla alone also reacts in the same way as the intact flowers. This has been avoided here because of the difficulty

in keeping the flowers without calyces in good condition. This perhaps may be possible by supplementary feeding with sugar.

Similarly it can be questioned whether chlorophyll directs the rhythmical motion of the petals. Chlorophyll controls photosynthesis, and the different responses to different wavelengths could possibly be due to the presence of differing amounts of photosynthetic products in the organs. Or they might also be due to changes in p_H value resulting from the photosynthetic activity. This could be checked in several ways: by supplying sugar to the flowers, by using mutants in which

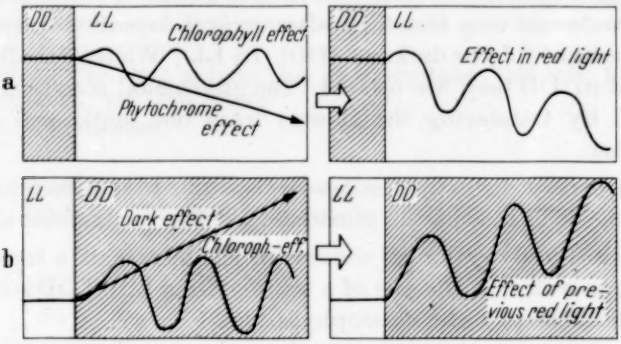


Fig. 12. Diagrams demonstrating how a superimposition of two different effects could lead to the effects observed in red light. (Explanation in text)

chlorophyll is lacking, or by using such agents as streptomycin which inhibits chlorophyll production. As far as feeding with sugar goes, BÜNSOW (1953a) has shown that flowers keep on oscillating for a much longer time in DD if the inflorescences are supplied with sugar. It has been reported in the case of the alga *Gonyaulax* that the diurnal periodicity is also affected by light absorbed by chlorophyll (SWEENEY et al., 1959). Production and cultivation of chlorophyll free mutants of an unicellular alga is far easier than that of higher plants; and it may, therefore, prove to be easier to check this point with, for example, *Gonyaulax* than with *Kalanchoe* flowers.

A third point still unexplained is the amount of screening by the anthocyanin. This pigment occurs practically only in the upper epidermis of the flowers. In the present investigation the flowers were illuminated from above. By illuminating them from below somewhat different results (e.g. a higher effect in blue light) might be obtained, giving thus at least qualitatively some idea of the amount of screening effect to anthocyanin.

A still further point worth mentioning is the fact that the angle of incidence of light on the petals is continuously changing due to their

movement. This means that the amount of incident energy/sec per flower is not constant. A fully open flower receives a much broader beam of light than a closed one. This changing incident energy could be used as an explanation for a self sustaining oscillation. However, that this is not the case is shown by a transfer from LL to DD; for a self sustaining oscillation due to continuously changing intensities is obviously impossible in DD.

Summary

The approximately diurnal movements of the flowers of *Kalanchoe blossfeldiana* come to a standstill after several days if they are kept in continuous light (LL) or darkness (DD). In LL ("White") the flowers are closed and in DD they are opened. The rhythmical movement can be reinitiated by transfering the flowers from one continuous condition to the other.

In the present investigation we have studied the effects of various wavelengths of light upon this phenomenon. The results were as follows:

1. The induced rhythmical movement in the case of a transfer from DD to LL as well as in the case of a transfer from LL to DD is controlled by light absorbed by the chlorophylls.

2. The general tendency of the flowers to close their corollas during LL is induced by red light acting most probably through the agency of phytochrome.

Zusammenfassung

Die tagesperiodische Blütenblattbewegung bei *Kalanchoe blossfeldinana* hört nach einigen Tagen Dauerlicht (LL) oder Dauerdunkel (DD) auf. Im LL („weiß") sind die Blüten dann geschlossen, im DD-geöffnet. Die rhythmische Bewegung kann wieder ausgelöst werden durch den einmaligen Übergang von einer Dauerbedingung (DD oder LL) in die andere (LL oder DD).

In der vorliegenden Arbeit haben wir die Wirkung verschiedener Wellenlängenbereiche des LL auf die Auslösung der Rhythmik untersucht. Es ergab sich:

1. Sowohl beim Übergang von DD zu LL als auch beim Übergang von LL zu DD wird die Auslösung der rhythmischen Bewegung durch solches Licht kontrolliert, das vom Chlorophyll absorbiert wird.

2. Die allgemeine Tendenz der Blüten, sich in LL zu schließen, beruht auf dem Rotlicht. Höchstwahrscheinlich wirkt es über das Phytochromsystem.

Note: While this paper was in press, the 25th Cold Spring Harbor Symposium on Quantitative Biology appeared, in which the paper of WILKINS includes a short synopsis of the effect of changes from light to darkness and vice verca.

Die Arbeit wurde durch die Deutsche Forschungsgemeinschaft ermöglicht. Wir danken Herrn Prof. E. BÜNNING, ferner Herrn P. K. MCNICOL für die Durchsicht des Manuskripts, Frl. R. ZIMMER für ihre Hilfe bei der Durchführung der Versuche und Herrn R. BÜNSOW für Hinweise.

Literature

Bünsow, R.: Über den Einfluß der Lichtmenge auf die endogene Tagesrhythmik bei *Kalanchoe blossfeldiana*. Biol. Zbl. **72**, 465—477 (1953a).

— Endogene Tagesrhythmik und Photoperiodismus bei *Kalanchoe blossfeldiana*. Planta (Berl.) **42**, 220—252 (1953b).

Engelmann, W.: Endogene Rhythmik und photoperiodische Blühinduktion bei *Kalanchoe*. Planta (Berl.) **55**, 496—511 (1960).

Hastings, J. W., and B. M. Sweeney: The *Gonyaulax* clock. In: Photoperiodism and rel. Phen. in Plants and Animals. Washington 1959.

Mohr, H., u. G. Schoser: Eine Interferenzfilter-Monochromatoranlage für photobiologische Zwecke. Planta (Berl.) **53**, 1—17 (1959).

Sweeney, B. M., F. T. Haxo and J. W. Hastings: Action spectra for two effects of light on luminescence in *Gonyaulax polyedra*. J. gen. Physiol. **43**, 285—299 (1959).

Wilkins, M. B.: The effect of light upon plant rhythms. Cold Spr. Harb. Symp. quant. Biol. **25**, 115—129 (1960).

Zimmer, R.: Unpublished.

Dr. Anand Karvé, Dr. Wolfgang Engelmann, Dr. Gustav Schoser,
Tübingen, Botanisches Institut der Universität, Wilhelmstr. 5

Autorenverzeichnis des 56. Bandes

Augsten, H. s. Müller-Stoll, W. R. S. 97

Blaim, K. s. Wanner, H. S. 499

Brauner, L., und M. Brauner, Versuche zur Analyse der geotropischen Perzeption. Die Veränderung der osmotischen Saugkraft im Schwerefeld. S. 416

Brauner, M. s. Brauner, L. S. 416

Czaja, A. Th., Neue Untersuchungen über die Struktur der partiellen Wandverdickungen von faserförmigen Kollenchymzellen. S. 109

Dawid, W. s. Plempel, M. S. 438

Drawert, H., und I. Metzner-Küster, Licht- und elektronenmikroskopische Untersuchungen an Desmidiaceen. I. Mitteilung. Zellwand- und Gallertstrukturen bei einigen Arten. S. 213

— und M. Mix, Licht- und elektronenmikroskopische Untersuchungen an Desmidiaceen. II. Mitteilung: Hüllgallerte und Schleimbildung bei *Micrasterias*, *Pleurotaenium* und *Hyalotheca*. S. 237

— — Licht- und elektronenmikroskopische Untersuchungen an Desmidiaceen. V. Mitteilung: Über die Variabilität der Chloroplastenstruktur bei *Micrasterias rotata*. S. 648

Eberhard, D., W. Rau und C. Zehender, Über den Einfluß des Lichts auf die Carotinoidbildung von *Fusarium aquaeductuum*. S. 302

Engelmann, W. s. Karvé, A. und G. Schoser. S. 700

Gross, H. s. Schwemmle, J. S. 377

Haccius, B., und D. Massfeller, Untersuchungen zur biologischen Aktivität der Phenylborsäure. S. 174

Haupt, W., und R. Thiele, Chloroplastenbewegung bei *Mesotaenium*. S. 388

Haustein, E., Eine androgene haploide *Oenothera scabra*. Kurze Mitteilung. S. 475

Hess, D., Ribosenucleinsäure und Blühinduktion. Kurze Mitteilung. S. 229

Höster, H.-R., und W. Zimmermann, Die Entwicklung des Leitbündelsystems im Keimblatt von *Pulsatilla vulgaris* mit besonderer Berücksichtigung der Protoxylem-Differenzierung. S. 71

Jürgensmeier, H.-L., Über das Zusammenwirken verschiedener Faktoren bei der Anthocyanentfärbung von Begonien. Kurze Mitteilung. S. 233

Karvé, A., W. Engelmann and G. Schoser, Initiation of rhythmical petal movements in *Kalanchoe blossfeldiana* by transfer from continuous darkness to continuous light or vice versa. S. 700

Kentzer, T., und E. Libbert, Blockade des Gibberellinsäure-Transports in Hypocotylsegmenten durch Trijodbenzoesäure. Zugleich ein neuer Agarblocktest auf Gibberelline. S. 23

Klämbt, H.-D., Wachstumsinduktion und Wuchsstoffmetabolismus im Weizenkoleoptilzylinder. Reaktionsprodukte der IES in Abhängigkeit von den Inkubationskonzentrationen. S. 309

— Wachstumsinduktion und Wuchsstoffmetabolismus im Weizenkoleoptilzylinder. II. Mitteilung: Stoffwechselprodukte der Indol-3-Essigsäure und der Benzoesäure. S. 618

Klingmüller, W., Die Schädigung von *Vicia faba*-Samen durch Trocknung — ein umkehrbarer Effekt. S. 290

Köhler, D., Ein Beitrag zur Physiologie und Genetik der Geschlechtsausprägung von *Cannabis sativa*. S. 150

Kreeb, K., Zur Frage des negativen Turgors bei mediterranen Hartlaubpflanzen unter natürlichen Bedingungen. S. 479

KREEB, K., und M. ÖNAL, Über die gravimetrische Methode zur Bestimmung der Saugspannung und das Problem des negativen Turgors. II. Mitteilung. Die Berücksichtigung von Atmungsverlusten während der Messungen. S. 409

LANGE, O. L., Die Hitzeresistenz einheimischer immer- und wintergrüner Pflanzen im Jahreslauf. S. 666

LARCHER, W., Jahresgang des Assimilations- und Respirationsvermögens von *Olea europaea* L. ssp. *sativa* HOFF. et LINK., *Quercus ilex* L. und *Quercus pubescens* WILLD. aus dem nördlichen Gardaseegebiet. S. 575

— Zur Assimilationsökologie der immergrünen *Olea europaea* und *Quercus ilex* und der sommergrünen *Quercus pubescens* im nördlichen Gardaseegebiet. S. 607

LIBBERT, E., Die enzymatische Auxinbildung aus Tryptophan unter Einfluß eines nativen Inhibitors. S. 1

— s. KENTZER, T. S. 23

LÜTTGE, U., Über die Zusammensetzung des Nektars und den Mechanismus seiner Sekretion. I. S. 189

MASSFELLER, D. s. HACCIUS, B. S. 174

METZNER-KÜSTER, I. s. DRAWERT, H. S. 213

MITRAKOS, K., Zur Frage nach Beziehungen zwischen Chlorophyllmetabolismus und Photoperiodismus. S. 511

MIX, M. s. DRAWERT, H. S. 237, 648

MÜLLER, H.-M., Über die Veränderung der chemischen Zusammensetzung von *Scenedesmus obliquus* bei synchroner Kultur im Licht-Dunkel-Wechsel. S. 555

MÜLLER-STOLL, W. R., und H. AUGSTEN, Untersuchungen über das Atmungsverhalten der *Hordeum*-Koleoptilen nach Kältebehandlung der Karyopsen. S. 97

NUERNBERGK, E. L., Endogener Rhythmus und CO_2-Stoffwechsel bei Pflanzen mit diurnalem Säurerhythmus. S. 28

NULTSCH, W., Der Einfluß des Lichtes auf die Bewegung der Cyanophyceen. I. Mitteilung: Photo*topo*taxis von *Phormidium autumnale*. S. 632

ÖNAL, M. s. KREEB, K. S. 409

PEVELING, E., Elektronenmikroskopische Untersuchungen an Zellkernen von *Cucumis sativus* L. S. 530

PLEMPEL, M., und W. DAWID, Die zygotropische Reaktion bei Mucorineen. II. Mitteilung. S. 438

PURVES, W. K., Dark reactions in the flowering of *Lemna perpusilla* 6746. S. 684

RAU, W. s. EBERHARD, D. und C. ZEHENDER. S. 302

ROSS, H., Viscosität und Permeabilität des Plasmas von *Lamium maculatum* bei Dürre-, Temperatur- und Schütteleffekten. S. 125

RÜNGER, W., Über den Einfluß der Stickstoffernährung und der Temperatur während Langtag- und Kurztagperioden auf die Blütenbildung von *Kalanchoe blossfeldiana*. S. 517

SCHNEIDER, G., Biochemische und entwicklungsphysiologische Untersuchungen zur Frage des Schossens und der Blütenbildung der Zuckerrübe. II. Mitteilung: Quantitative Veränderungen des Eiweiß-, Aminosäuren- und Zuckergehaltes während des Überganges in die reproduktive Entwicklung. S. 322

SCHOSER, G. s. KARVÉ, A. und W. ENGELMANN. S. 700

SCHWARZE, P., Untersuchungen über die Ursachen der Peroxydasevermehrung in gestörten *Phaseolus*-Artbastarden. S. 691

SCHWEMMLE, J., Keimversuche auf genetischer Grundlage. IV. Mitteilung: Prädetermination der Lichtbedürftigkeit der Samen und des Keimverlaufes. S. 348

Schwemmle, J., Keimversuche auf genetischer Grundlage. V. Mitteilung: Versuche mit Samen von Homozygoten. S. 357

— und H. Gross, Keimversuche auf genetischer Grundlage. VI. Mitteilung: Der Einfluß der Unterlage auf die Keimung von Samen der aufgepfropften Reiser. S. 377

Sparmann, G., Morphologische und biochemische Untersuchungen an vernalisierten und nichtvernalisierten Gerstenpflanzen. S. 447

Thiele, R. s. Haupt, W. S. 388

Vieweg, G. H. s. Ziegler, H. S. 402

Wanner, H., und K. Blaim, Ein Beitrag zur Biosynthese und Physiologie von Kaffein und Trigonellin bei *Coffea arabica*. S. 499

Weichart, G., Untersuchungen über Phosphorylierungsprozesse bei der Photosynthese höherer Pflanzen *(Helodea)* unter Verwendung von radioaktivem Phosphat. S. 262

Werz, G., Unterschiede der Protoplasten-Strukturierungen bei verschiedenen Dasycladaceen und ihre Abhängigkeit von artspezifischen Kernwirkungen. S. 490

Zehender, C. s. Eberhard, D. und W. Rau. S. 302

Ziegler, H., und G. H. Vieweg, Der experimentelle Nachweis einer Massenströmung im Phloem von *Heracleum mantegazzianum* Somm. et Lev. S. 402

Zimmermann, W. s. Höster, H.-R. S. 71